

**„Untersuchungen zu endothelialen Progenitorzellen bei  
übergewichtigen und normalgewichtigen männlichen  
Jugendlichen - ein Dreijahresfollow-Up“**

**Dissertation zur Erlangung des  
akademischen Grades**

**Doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der  
Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Michelle Schramm, geb. Schaarschmidt  
geboren am 19.07.1986 in Lichtenstein

**Gutachter**

1. PD Dr. Christian Jung, Jena
2. PD Dr. Alexander Pfeil, Jena
3. Prof. Dr. Andreas Hansch, Zwickau

**Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.05.2015**

## Abkürzungsverzeichnis

7-AAD	7-Aminoactinomycin
AGA	Arbeitsgemeinschaft Adipositas
Ao	Durchmesser Aortenwurzel in mm
APC	Allophycocyanin
BMI	Body Mass Index in kg/m <sup>2</sup>
CD	cluster of differentiation
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CrP	C-reaktives Protein in mg/l
DEXA	Dual-energy-X-ray-Absorptionsmetrie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECOG	European Childhood Obesity Group
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EF	Ejektionsfraktion in %
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid Synthase
EPC	endotheliale Progenitorzellen
FACS	fluorescence activated cell sorting
FcR	Rezeptor für das kristalline Fragment von Antikörpern
FCS	fetales Kalbserum
FITC	Fluorescein isothiocyanate
FL	Fluoreszenz
FS	Fractional shortening in %
FSC	forward scatter
G1	Gate 1
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor

GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
HbA1c	glykiertes Hämoglobin in %
HDL	high density lipoprotein in mmol/l
IASO	International Association for the Study of Obesity
ICAM1	intercellular adhesions molecule - 1
IL	Interleukin
IOTF	International Obesity Task Force
IVSd	Durchmesser Interventrikularseptum diastolisch in mm
IVSs	Durchmesser Interventrikularseptum systolisch in mm
KDR	kinase insert domain receptor (Synonym: VEGFR2)
KHCO <sub>3</sub>	Kaliumhydrogencarbonat
KiGGS	Kinder- und Jugendgesundheitssurvey
KLH	keyhole limpet hemocyanin
LADs	Linksatrialer Durchmesser systolisch in mm
LDL	low density lipoprotein in mmol/l
LL	lower left
LP(a)	Lipoprotein (a) in mg/l
LR	lower right
LVDd	Linksventrikulärer Durchmesser diastolisch in mm
LVDs	Linksventrikulärer Durchmesser systolisch in mm
LVPWd	Durchmesser linksventrikuläre Hinterwand diast. in mm
LVPWs	Durchmesser linksventrikuläre Hinterwand syst. in mm
M1	Marker 1
MIF	migration inhibitory factor
MRP 8/14	myeloid - related protein 8/14

MRT	Magnetresonanztomografie
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
NH <sub>4</sub> Cl	Ammoniumchlorid
PBS	phosphate-buffered-saline
PC	personal computer
PE	Phycoerythrin
PECAM-1	platelet endothelial cell adhesion molecule-1
PIGF	placenta growth factor
R1	Analyse - Region 1
RBP4	retinol - binding protein - 4
RKI	Robert Koch - Institut
R-PE	R-phycoerythrin
SCF	stem cell factor
SDF-1	stromal-derived factor-1
SDS	standard deviation score
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSC	sideward scatter
TNF $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor $\alpha$
UL	upper left
UR	upper right
VEGF	vascular endothelial growth factor
VEGF R2	vascular endothelial growth factor receptor-2
WHO	World Health Organisation
WHR	Waist-Hip-Ratio
WtHR	Waist-to-Height-Ratio

# Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	1
2	Einleitung .....	3
2.1	Grundlagen des Übergewichtes und der Adipositas.....	3
2.1.1	Definition und Bestimmung von Übergewicht und Adipositas.....	3
2.1.2	Epidemiologie .....	5
2.1.3	Ätiologie.....	7
2.2	Konsequenzen des Übergewichtes.....	11
2.2.1	Herz- und Kreislauferkrankungen .....	11
2.2.2	Arterielle Hypertonie .....	13
2.2.3	Diabetes mellitus .....	13
2.3	Prävention und Therapieoptionen.....	14
2.3.1	Indikation .....	14
2.3.2	Ernährungstherapie .....	16
2.3.3	Bewegungstherapie .....	16
2.3.4	Verhaltenstherapie .....	18
2.3.5	Abnehm- und Schulungsprogramme .....	18
2.4	Endotheliale Progenitorzellen .....	19
2.4.1	Definition und Identifizierung .....	19
2.4.2	Mobilisierung und Regulation der EPC.....	21
2.4.3	Rolle der EPC in der Atherogenese.....	22
2.4.4	EPC und altersabhängige Veränderungen .....	23
2.4.5	EPC und Übergewicht.....	23
2.4.6	EPC im Kindes- und Jugendalter.....	24
3	Ziele der Arbeit .....	26
4	Patienten und Methoden .....	27
4.1	Patienten- und Kontrollgruppe .....	27
4.1.1	Fallgruppe.....	27
4.1.2	Kontrollgruppe .....	28
4.2	Materialien und Geräte .....	29
4.2.1	Verbrauchsmaterialien.....	29
4.2.2	Chemikalien .....	30
4.2.3	Antikörper .....	30
4.2.4	Geräte.....	32
4.2.5	Durchflusszytometrie .....	34
4.2.6	Software.....	37
4.3	Experimentelle Methoden .....	37
4.3.1	Gewinnung der Blutproben .....	37
4.3.2	Herstellung verwendeter Lösungen .....	38
4.3.3	Herstellung der Antikörperversdünung.....	39

4.3.4	Arbeitsschritte zur Probenpräparation .....	40
4.3.5	Ablauf der durchflusszytometrischen Analyse .....	44
4.3.6	Auswertung der durchflusszytometrischen Analyse .....	46
4.3.7	Berechnung der Anzahl im peripheren Blut zirkulierender Zellen ..	48
4.3.8	Bestimmung klinisch-chemischer Laborparameter .....	50
4.3.9	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	50
4.3.10	Berechnung anthropometrischer Indizes .....	50
4.4	Statistische Methoden.....	55
5	Ergebnisse .....	56
5.1	Charakteristika der Studienteilnehmer .....	56
5.1.1	Basischarakteristika der Studiengruppen .....	56
5.1.2	Endotheliale Progenitorzellen.....	57
5.1.3	Apoptose.....	57
5.1.4	Kardiovaskuläre Risikoparameter.....	58
5.1.5	Biomarker .....	59
5.1.6	Echokardiografie.....	60
5.1.7	Lebensstil und Familienanamnese .....	60
5.2	Entwicklung der Werte im Verlauf.....	63
5.2.1	Ergebnisse in der Gruppe der normalgewichtigen Jugendlichen ..	63
5.2.2	Ergebnisse in der Gruppe der übergewichtigen Jugendlichen .....	65
5.3	Evaluation des Abnehmprogramms .....	67
6	Diskussion.....	71
6.1	EPC im Kindes- und Jugendalter .....	71
6.1.1	Veränderungen im Laufe des Lebens.....	71
6.1.2	EPC und Übergewicht.....	72
6.1.3	Weitere Einflussfaktoren der EPC .....	73
6.2	Übergewicht als Risikofaktor.....	78
6.3	Die entscheidende Rolle des Lebensstils in der Entstehung des Übergewichtes .....	82
6.4	Abnehmprogramm ohne Langzeiterfolg .....	85
7	Schlussfolgerungen .....	89
8	Literatur- und Quellenangaben .....	90
9	Anhang.....	119
9.1	Fragebogen.....	119
9.2	Vorabveröffentlichung .....	125
9.3	Danksagung .....	126
9.4	Ehrenwörtliche Erklärung.....	127





# 1 Zusammenfassung

Adipositas zeigt sowohl im Erwachsenenalter als auch bei Kindern und Jugendlichen weltweit eine steigende Prävalenz. Eine beachtliche Konsequenz der Adipositas ist die Entstehung von Herz- und Kreislauferkrankungen. Ihnen liegt meist eine Störung der Endothelfunktion zugrunde, die als Schlüsselereignis in der Atherogenese angesehen wird. Endotheliale Progenitorzellen (EPC), aus dem Knochenmark stammende endotheliale Vorläuferzellen, sind in der Lage diese Art von peripheren Endothelschäden zu regenerieren sowie in ischämischen Arealen eine Neovaskularisation zu ermöglichen. Möglicherweise können die EPC somit als biologischer Marker für subklinische Atherosklerosevorgänge betrachtet werden.

In diesem Kontext war es das Ziel vorliegender Arbeit, die EPC im Jugendalter zu evaluieren, Auswirkungen des Übergewichtes im Verlauf näher zu untersuchen sowie Effekte eines Abnehmprogramms zu beurteilen. Als Ausgangspunkt fungierte dabei das Untersuchungskollektiv einer Vorstudie von Jung et al. (2009), welche EPC im Kindes- und Jugendalter erforscht hatten.

Mittels durchflusszytometrischer Messungen unter Verwendung fluoreszenzgekoppelter Antikörper wurden aus peripher-venösem Blut männlicher normal- und übergewichtiger Jugendlicher CD34+ EPC (CD34+/CD133+/KDR+) sowie CD34- EPC (CD34-/CD133+/KDR+) bestimmt. Weiterhin wurden klassische Risikoparameter kardiovaskulärer Erkrankungen ermittelt (Laborparameter, anthropometrische Maße, echokardiografische Maße, Sport- und Ernährungsgewohnheiten). Mittels eines Fragebogens erfolgte zudem eine Evaluation des stattgehabten Abnehmprogramms der übergewichtigen Teilnehmer.

Im vorliegenden Untersuchungskollektiv hatte das Übergewicht keinen Einfluss auf die Anzahl der EPC. Die Übergewichtigen wiesen aber im Vergleich zu den Normalgewichtigen eine ungünstigere LDL/HDL-Ratio ( $p=0,045$ ), höhere Werte des C-reaktiven Proteins ( $p=0,020$ ) und höhere systolische ( $p=0,022$ ) sowie diastolische ( $p=0,047$ ) Blutdruckwerte auf. Der moderne Biomarker Stromal

cell-derived factor-1, der bei ischämischen Prozessen erhöht ist, ergab für die Übergewichtigen unserer Studie darüber hinaus höhere Werte im Vergleich zur Vorstudie. In der Echokardiografie konnten überdies für die Probanden des übergewichtigen Kollektivs erste strukturelle Veränderungen im Sinne einer Linksherzhypertrophie festgestellt werden. Das sechswöchige stationäre Abnehmprogramm verzeichnete kurzzeitige Therapieerfolge, langfristig jedoch stabilisierten sich diese nicht.

Die Ergebnisse vorliegender Arbeit zeigen, dass die übergewichtigen Jugendlichen systemischen inflammatorischen Prozessen ausgesetzt sind. Eine Auswirkung auf die EPC-Zahl konnte nicht nachgewiesen werden. Unsere Daten lassen aber vermuten, dass Übergewicht einen Risikofaktor für die Entstehung einer arteriellen Hypertonie und struktureller kardialer Veränderungen darstellt. Eine frühzeitige Intervention sollte zukünftig erfolgen, um das kardiovaskulär bedingte Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko adipöser Kinder und Jugendlicher zu senken. Diesbezüglich angeboten wird eine Vielzahl von Therapieprogrammen, die jedoch meist unbefriedigende Langzeiterfolge aufweisen. Es bedarf in Zukunft einer kritischen Analyse sowie Standardisierung der Therapieprogramme, denn nur mit einer adäquaten Qualitätssicherung kann das wachsende gesellschaftliche und gesundheitspolitische Problem erfolgreich angegangen werden.

## 2 Einleitung

### 2.1 Grundlagen des Übergewichtes und der Adipositas

#### 2.1.1 Definition und Bestimmung von Übergewicht und Adipositas

Unter der Bezeichnung Übergewicht beziehungsweise Adipositas ist eine über das Normalmaß hinausgehende Ansammlung des Körperfettes zu verstehen, welche die Gesundheit zu beeinträchtigen vermag (WHO 2012). Dabei muss berücksichtigt werden, dass Übergewicht und Adipositas unterschiedlichen Definitionen entsprechen. Die World Health Organization nimmt diesbezüglich eine Einteilung in Schweregrade durch die Bestimmung des Body Mass Index (BMI) vor (Völler et al. 2004). Diese sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Klassifikation der Adipositas

<b>Klassifikation</b>	<b>BMI (<math>\text{kg/m}^2</math>)</b>
Untergewicht	< 18,5
Normalgewicht	18,5 - 24,9
Übergewicht	25,0 - 29,9
Adipositas	
- Grad I	30,0 - 34,9
- Grad II	35,0 - 39,9
- Grad III	> 40,0

Der BMI ist eine Verhältniszahl zur Beurteilung des Körpergewichtes. Durch ihn wird indirekt die Körperfettmasse durch Berechnung des Quotienten aus Körpermasse in Kilogramm und dem Quadrat der Körpergröße in Metern bestimmt werden. Des Weiteren können Nomogramme für die Ermittlung genutzt werden (Bach 2007). Mit Hilfe der Bestimmung des BMI kann eine Risikoabschätzung bezüglich der Morbidität und Mortalität bestimmter Personen in einer definierten Population erfolgen. Demzufolge definiert ein BMI-Wert von  $> 24,9 \text{ kg/m}^2$  eine Person als übergewichtig und führt zu einer geringen Erhöhung des Risikos für Begleiterkrankungen des Übergewichtes

(WHO 2000). Daten der Framingham-Studie zeigen zudem eine Lebenszeitverkürzung von etwa drei Jahren bei übergewichtigen Personen im Alter von 40 Jahren im Vergleich zu normalgewichtigen gleichen Alters (Bray 2004). Wird der BMI-Wert von  $30,0 \text{ kg/m}^2$  überschritten, liegt nach der WHO (2012) eine Adipositas vor. Die Lebenszeitverkürzung der Adipösen liegt in diesem Falle bereits bei ungefähr sechs bis sieben Jahren verglichen mit Normalgewichtigen gleichen Alters (Bray 2004). Je höher sich der Grad der Adipositas aufzeigt, desto größer stellt sich das Risiko für Begleiterkrankungen dar. Das Vorliegen eines BMI-Wertes von  $> 35,0 \text{ kg/m}^2$  ist mit einem hohen gesundheitlichen Risiko assoziiert, ab einem BMI von  $> 40,0 \text{ kg/m}^2$  wird von einer morbiden Adipositas gesprochen (Goebel et al. 2006).

Zur Bestimmung von Übergewicht und Adipositas stehen weitere zahlreiche Methoden und Indizes zur Verfügung. Häufig kommen indirekte Messverfahren zum Einsatz. Diese indirekten Verfahren sind einfache Methoden wie die bereits erwähnte BMI-Ermittlung oder auch die Hautfaltenmessung (Reilly et al. 1995), die bioelektrische Impedanzanalyse (Mast et al. 2002) sowie Ultraschallmessungen (Abe et al. 1996). Des Weiteren können aufwändigere Methoden, wie die Densitometrie (Snead et al. 1993), die Dual-energy-X-ray-Absorptionsmetrie (DEXA) (Laskey et al. 1996) oder die Magnetresonanztomographie (MRT) (Kamba et al. 2000) zur Fettmassenbestimmung verwendet werden. In der Praxis wird auf die besser verfügbaren einfacheren Methoden zurückgegriffen, die außerdem mit bedeutend niedrigeren Interventionskosten und Aufwand versehen sind. In zahlreichen Studien (Micozzi et al. 1986; Spyckerelle et al. 1988; Daniels et al. 1997; Pietrobelli et al. 1998) wurde der BMI als ein akzeptables Maß für die Gesamtkörperfettmasse erklärt, sodass dieser laut Empfehlungen der European Childhood Obesity Group (ECOG) sowie der Childhood Group der International Obesity Task Force (IOTF) (Poskitt 1995; Moreno et al. 2006) sowohl im Erwachsenen- (WHO 2012) als auch im Kindes- und Jugendalter zur Bestimmung von Übergewicht und Adipositas angewendet werden sollte.

Bei Kindern und Jugendlichen muss bei der Beurteilung von Übergewicht und Adipositas beachtet werden, dass der BMI alters- und geschlechtsspezifischen Veränderungen unterliegt. So empfiehlt die Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA) die Bestimmung für deutsche Kinder mittels geschlechtsspezifischer Altersperzentilen nach Kromeyer-Hauschild durchzuführen (Kromeyer-Hauschild et al. 2001, Abbildung 1). Zur Identifikation von Übergewicht beziehungsweise Adipositas werden dabei die 90. und 97. Perzentile verwendet. Der Terminus „übergewichtig“ sollte ab dem 90. Perzentil vergeben werden, als adipös wird ein Kind oder Jugendlicher eingestuft, dessen BMI auf oder über der 97. Perzentile liegt (AGA 2012).

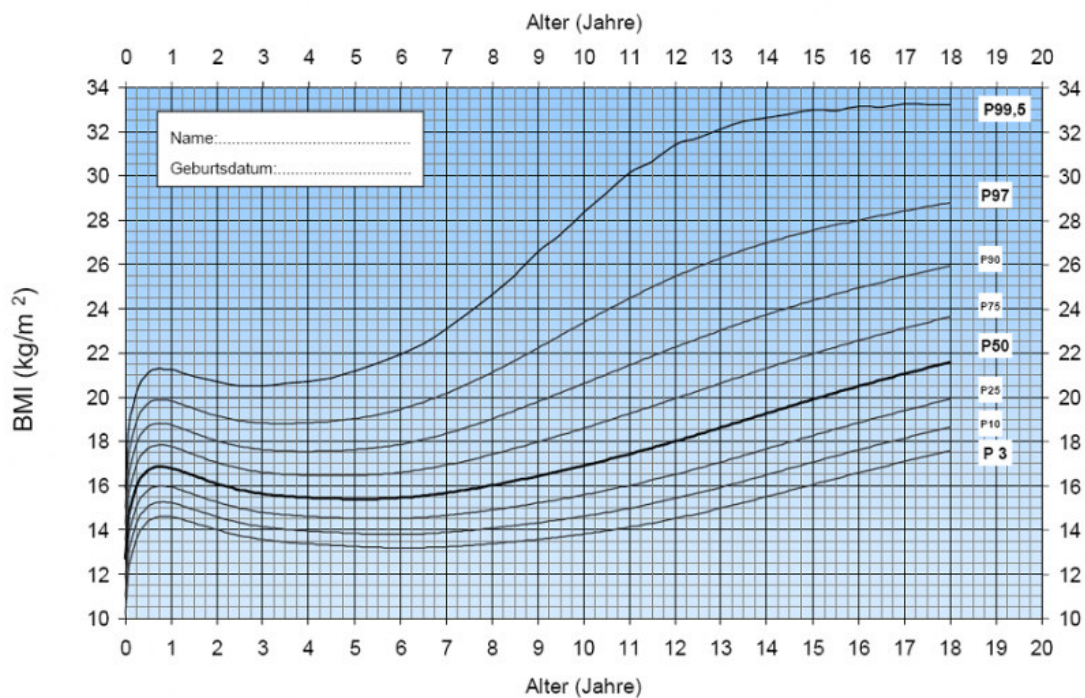


Abbildung 1: Perzentilkurven für den Body Mass Index, Jungen 0-18 Jahre (Kromeyer-Hauschild et al. 2001)

### 2.1.2 Epidemiologie

Übergewicht und Adipositas haben in den letzten Jahrzehnten in der Welt beharrlich zugenommen. Gemäß einer neuen Analyse der International Obesity Task Force von 2010 sind weltweit nahezu eine Milliarde der Erwachsenen übergewichtig und weitere 475 Millionen adipös. Doch nicht nur bei den

Erwachsenen zeigen sich steigende Prävalenzen, sondern auch bei den Kindern und Jugendlichen.

Weltweit waren im Jahr 2010 etwa 22 Millionen Kinder im Alter unter 5 Jahren adipös und eines von 10 Kindern litt an Übergewicht (Raj und Kumar 2010), Tendenz steigend. Wie eine Studie von de Onis et al. (2010) zeigt, lag die Prävalenz für Übergewicht und Adipositas bei Kindern 1990 weltweit bei 4,2%. Im Jahre 2010 konnten bereits 6,7% erfasst werden. Diesem Trend zufolge würde die Prävalenz im Jahr 2020 einen Wert von 9,1% erreichen. Dabei ist dies längst nicht mehr ausschließlich eine Angelegenheit der Industrienationen (Abbildung 2). Auch in den Entwicklungsländern ist eine steigende Prävalenz der Fettleibigkeit, vor allem in den letzten 20 Jahren, zu verzeichnen (International Association for the Study of Obesity 2012). Während in den Industrienationen zwischen 1990 und 2010 ein relativer Anstieg der Prävalenz von 48% registriert wurde, konnten in den Entwicklungsländern Anstiege von 65% festgestellt werden (de Onis et al. 2010).

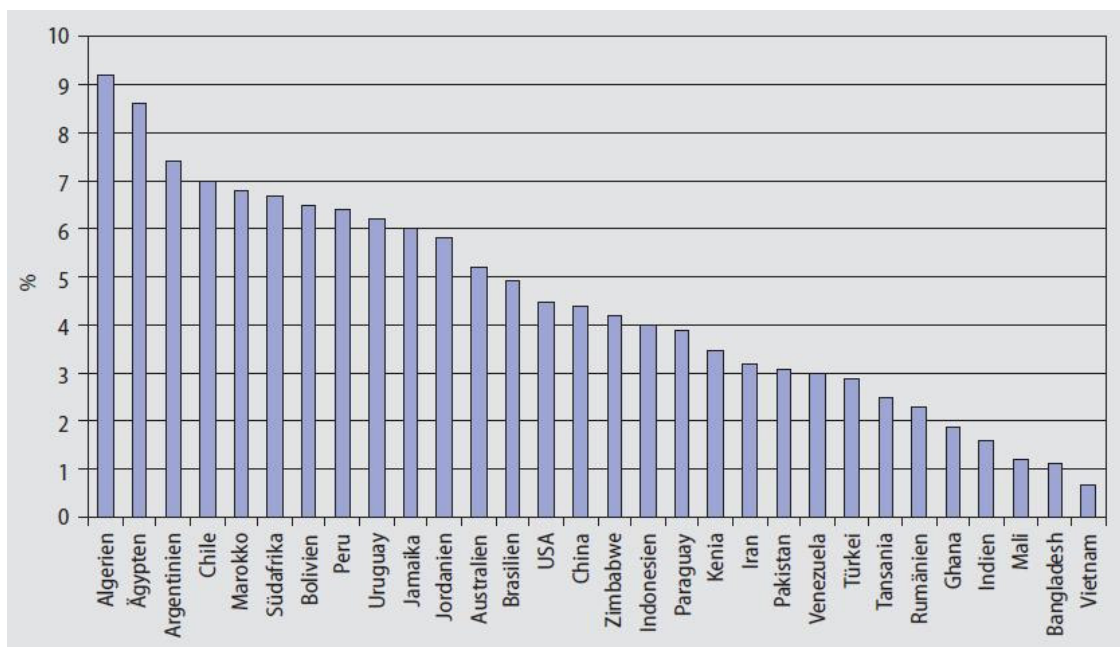


Abbildung 2: Weltweite Prävalenz von Übergewicht bei Kindern unter 5 Jahren (modifiziert nach Rauh-Pfeiffer und Koletzko 2007)

Auch in Deutschland gibt es keinerlei Zweifel daran, dass der Anteil übergewichtiger und adipöser Kinder und Jugendlicher steigt. So konnte im bundesweiten Kinder- und Jugendgesundheitssurvey (KiGGS) des Robert Koch-Instituts (RKI 2007) gezeigt werden, dass insgesamt 15% der 3- bis 17-Jährigen übergewichtig sind und 6,3% unter Adipositas leiden. Verglichen mit der Referenzpopulation der 1980er und 1990er Jahre hat sich der Anteil der Übergewichtigen (Adipöse eingeschlossen) um 50% erhöht. Überdies zeigt sich ein unterschiedlicher Gewichtsanstieg in den entsprechenden Altersgruppen: der Anteil übergewichtiger Kinder bei Schuleintritt verdoppelt sich bis in das Jugendalter, bei adipösen Kindern konnte eine Verdreifachung des Anteils im Jugendalter festgehalten werden (Tabelle 2). Ein signifikanter Unterschied bezüglich Übergewicht und Adipositas zwischen Jungen und Mädchen konnte nicht beschrieben werden (Kurth und Schaffrath Rosario 2007).

Tabelle 2: Häufigkeit von Übergewicht und Adipositas in den entsprechenden Altersgruppen nach KiGGS

<i><b>Alter (Jahre)</b></i>	<i><b>Übergewicht (%)</b></i>	<i><b>Adipositas (%)</b></i>
3 - 6	9,1	2,9
7 - 10	15,4	6,4
11 - 13	18,6	7,2
14 - 17	17,1	8,5

### **2.1.3 Ätiologie**

Die Ursachen des Übergewichtes beziehungsweise der Adipositas sind aufgrund der Präsenz der Thematik derzeit Gegenstand aktueller Forschungen. Es muss von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen werden. In der Literatur wird zwischen genetischen- und Umweltfaktoren differenziert, wobei eine Wechselwirkung zwischen diesen möglich scheint (Graf 2010, Völler et al. 2004, Zwiauer und Widhalm 1984).

Die genetisch bedingte Adipositas folgt in der Mehrzahl der Fälle einem polygenen Erbmuster, belegt durch zahlreiche Zwillings- und Adoptionsstudien

(Stunkard et al. 1990, Kiess et al. 2001). In Beziehung zur Ausbildung der Adipositas stehen mittlerweile mehr als 100 identifizierte Gene (Chagnon et al. 2000). Eine polygene Adipositas kann allerdings nur entstehen, wenn ein Individuum eine Vielzahl von Genveränderungen in den entsprechenden Genen besitzt. Dies verdeutlicht auch der Tatbestand, dass sich bei Normalgewichtigen ebenfalls solche Genvarianten nachweisen lassen, jedoch in statistisch geringerem Ausmaß (Hebebrand et al. 2010). Im Gegensatz dazu steht die monogene Adipositas, die durch Veränderungen eines einzelnen Gens zu starkem Übergewicht führt. Hierfür sprechen Mutationen in den Genen, unter anderem für Leptin, Leptinrezeptor, Prohormon Convertase 1 sowie Proopiomelanocortin ermittelt werden (Farooqi und O'Rahilly 2005). Das Auftreten solcher Mutationen in der Bevölkerung ist hingegen selten.

Des Weiteren existieren prädisponierende Umwelteinflüsse, die die Entstehung von Adipositas begünstigen. Bereits pränatale Faktoren nehmen Einfluss auf die spätere Entwicklung von Übergewicht. Ursächlich hierfür ist das sogenannte metabolic-imprinting-Phänomen. Dieses besagt, dass Veränderungen in neuronalen und neuroendokrinen Regelkreisen in kritischen und empfindlichen Phasen der frühen kindlichen Entwicklung in weiterer Folge durch lebenslange präprogrammierende Auswirkungen zur Entwicklung von Adipositas führen (Waterland und Garza 1999). So haben Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft adipös waren, ein größeres Risiko, ein höheres Geburtsgewicht zu besitzen und im Laufe ihres Lebens selbst eine Adipositas zu entwickeln (Hincz et al. 2009, Kalk et al. 2009, Seidman et al. 1991). Andererseits zeigen Studien, dass Kinder mit niedrigem Geburtsgewicht aufgrund einer fetalen Mangelernährung zu einem raschen Aufholwachstum neigen, mit der Folge ihr Sollgewicht zu überschreiten sowie häufiger übergewichtig zu sein. Erklärt wird diese Tatsache mit dem Phänomen des metabolic primings. Während der Fetalzeit lernt der kindliche Organismus im Falle einer andauernden Mangelversorgung die Ressourcen effizient zu verwerten. Postpartal führt die normale beziehungsweise überhöhte Energiezufuhr bei beibehaltenem Effizienzmechanismus durch die positive Energiebilanz rasch zu Übergewicht (Holub und Götz 2003). Ferner zeigen



zahlreiche Studien, dass das Risiko für Adipositas ansteigt, je kürzer das Stillen der Kinder andauert (Vafa et al. 2012, Durmus et al. 2011, Koletzko et al. 2010).

Ein weiterer prädisponierender Faktor für die Entstehung einer Adipositas ist ein inaktiver Lebensstil. Untersuchungen zeigen, dass die Bewegungsumfänge der Kinder und Jugendlichen in den 1970er Jahren um bis zu drei bis vier Stunden pro Tag größer waren als heutzutage (Graf 2010). Ebenso verminderte sich die Fitness, insbesondere bei Ausdauerleistungsfähigkeit, Sprungkraft und Flexibilität, um 10 bis 20% im 20-Jahresvergleich zwischen 1980 und 2000 (Graf 2010). Dabei besteht ein enger Zusammenhang zwischen der geringen körperlichen Aktivität, der Nutzung elektronischer Medien sowie der Verbreitung von Adipositas. Die Daten der KiGGS-Studie zeigen eine steigende Adipositasrate bei sich erhöhender Gesamtzeit der Mediennutzung. So geben bei den 11 bis 17-Jährigen 24,8% der Jungen und 26,2% der Mädchen an, pro Tag weniger als eine Stunde fern zu sehen. In dieser Gruppe zeigt sich eine Adipositasrate von 5,3%. Wenn hingegen 22,1% der Jungen und 23,6% der Mädchen angeben, drei oder mehr Stunden täglich das Medium Fernsehen nutzen, liegt die Adipositasrate mehr als doppelt so hoch bei 11,5%. Bei einer Gesamtnutzungsdauer der elektronischen Medien (Fernsehen/Video, Computer/Internet, Spielkonsole) von sechs und mehr Stunden pro Tag zeigt sich ein statistisch bedeutsames Risiko für Adipositas (Lampert et al. 2007).

Neben der körperlichen Aktivität ist das Ernährungsverhalten von zentraler Bedeutung für die Entstehung von Adipositas. Inwieweit sich jedoch die Nahrungsaufnahme der Übergewichtigen von den Normalgewichtigen unterscheidet, wird derzeit noch kontrovers diskutiert. Einerseits werden kaum Unterschiede in der Nahrungsaufnahme beschrieben, andererseits zeigt sich eine positive Korrelation zwischen der täglichen Fettaufnahme und dem Körpergewicht Übergewichtiger (Holub und Götz 2003). Da die Erfassung der Ernährung von Kindern und Jugendlichen methodisch schwer durchführbar ist, lässt sich eine abschließende Beurteilung zum Einfluss von Energiegehalt und

Nahrungszusammensetzung auf das Übergewicht nur unzureichend durchführen (Lanfer et al. 2010).

Als weitere prädisponierende Faktoren (Tabelle 3) kristallisieren sich ein niedriges Bildungsniveau der Eltern, ein niedriges Haushaltsnettoeinkommen, der Migrationshintergrund, ein alleinerziehender Elternteil, eine geringe Wohnfläche sowie das Aufwachsen in einer urbanen Umgebung heraus (Dannemann et al. 2011, Lange et al. 2010, Kurth und Schaffrath Rosario 2007, Holub und Götz 2003).

Tabelle 3: Prävalenz von Übergewicht und Adipositas bei 6 bis 14-Jährigen unter Berücksichtigung verschiedener soziodemografischer Charakteristika und Charakteristika des Wohnbezirks (Auszug aus Lange et al. 2010)

	<b>Anteil (%)</b>	<b>Übergewicht + Adipositas (%)</b>	<b>p</b>
Schulbildung der Eltern (n=9386)			<0,001
Niedrig	19,9	18,4	
Mittel	31,3	13,6	
Hoch	48,8	7,9	
Abgeschlossene Berufsausbildung (n=7943)			<0,001
Kein Elternteil	4,3	18,8	
Ein Elternteil	12,4	20,1	
Beide Elternteile	83,2	10,0	
Einkommen (n=5684)			<0,001
Niedrig	13,8	19,2	
Mittel	30,9	16,3	
Hoch	55,2	8,5	
Nationalität (n=8631)			<0,001
Deutsch	90,4	11,7	
Nicht-deutsch	9,6	20,2	
Wohnraum/Person (n=8044)			<0,001
≤ 1 Raum/Person	54,6	14,2	
> 1 Raum/Person	45,4	9,2	
Alleinerziehend (n=9553)			0,013
Ja	23,5	14,3	
Nein	76,5	11,1	
Soziales „Niveau“ des Wohnbezirks (n=14378)			<0,001
Niedrig	42,9	17,2	
Mittel	21,7	15,0	
Hoch	35,5	11,0	
Verkehrsdichte (n=3440)			0,001
Niedrig	40,6	12,0	
Hoch	31,4	16,6	

Ferner müssen Erkrankungen, die mit Übergewicht und Adipositas einhergehen, diagnostisch abgegrenzt werden. Hierzu zählen syndromale Erkrankungen wie das Prader-Willi-Syndrom sowie Erkrankungen wie beispielsweise das Cushing-Syndrom oder Hypothyreose, die mit sekundärer Adipositas einhergehen. Auf diese soll hier nicht näher eingegangen werden, da diese im Kindes- und Jugendalter nur selten ursächlich für Fettleibigkeit sind (Rauh-Pfeiffer und Koletzko 2007).

## **2.2 Konsequenzen des Übergewichtes**

Die Zunahme der Körperfettmasse führt zu einer Vielzahl von Veränderungen sowohl auf physiologischer Ebene als auch psychosozial. Insbesondere bei Kindern kann die Symptomatik adipositasassoziiierter Erkrankungen diskret ausfallen, weshalb dem Symptomenkomplex besondere Aufmerksamkeit zukommen sollte. Von besonderem Interesse ist dabei die hohe Komorbiditätsrate der Adipositas bei Übergewichtigen im Vergleich zu normalgewichtigen Kindern und Jugendlichen (Wabitsch 2004). Zu diesen komorbiden Erkrankungen gehören neben orthopädischen und gastroenterologischen Folgestörungen sowie Störungen der psychosozialen Entwicklung vor allem Erkrankungen des metabolischen Formenkreises, auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

### **2.2.1 Herz- und Kreislauferkrankungen**

Herz- und Kreislauferkrankungen sind multifaktorieller Genese. Als eine beachtliche Ursache ist die Fettleibigkeit zu nennen. Vorzugsweise Adipositas im Kindesalter zählt als bedeutender Faktor für die Entwicklung von Herz- und Kreislauferkrankungen im Erwachsenenalter (Reinehr et al. 2005, Raj 2012). So zeigen Owen et al. (2009), dass der BMI, gemessen bei Kindern zwischen 7 und 18 Jahren, positiv mit dem Risiko, in Zukunft an einer koronaren Herzerkrankung zu leiden, korreliert. Weiterhin wurde in einer Langzeitstudie mit 227000 jugendlichen Norwegern ermittelt, dass das relative Risiko an einer ischämischen Herzerkrankung zu sterben für übergewichtige Männer, verglichen zu Normalgewichtigen, bei 2,9 liegt. Für übergewichtige Frauen

konnte ein relatives Risiko von 3,7 festgestellt werden (Björge et al. 2008). Freedman et al. (2007) belegen, dass die Höhe des BMI positiv mit der Anzahl der kardiovaskulären Risikofaktoren korreliert. Während bei Kindern mit einem BMI unterhalb der 25. Perzentile in nur 5% zwei Risikofaktoren ermittelt wurden, konnten bei Kindern mit einem BMI oberhalb der 99. Perzentile in 59% zwei Risikofaktoren konstatiert werden. Ferner werden übergewichtige Kinder häufiger im Erwachsenenalter übergewichtig als normalgewichtige Kinder.

Übergewicht beeinflusst des Weiteren die kardiovaskulären Risikofaktoren Triglyzeride, Low-Density-Lipoproteine (LDL) und High-Density-Lipoproteine (HDL). Häufig werden eine Dyslipidämie mit erhöhten Plasmakonzentrationen für Triglyzeride sowie eine reduzierte Konzentration des protektiven HDL beschrieben (Freedmann et al. 1999, Reinehr et al. 2005). Diese Dyslipidämie ist unter anderem stark mit arteriosklerotischen Veränderungen in der Aorta und den Koronarien assoziiert. Studien zeigen, dass der genannte Prozess bereits in der frühen Kindheit beginnt und mit dem Alter zunimmt (Berenson et al. 1998). Verstärkt werden die kardiovaskulären Veränderungen durch oxidativen Stress, der positiv mit dem Vorhandensein von Adipositas korreliert (Keaney et al. 2003). Übergewichtige Kinder zeigen signifikant höhere Plasmakonzentrationen der proinflammatorischen Mediatoren C-reaktives Protein (CRP), Interleukin 6 (IL 6) und 20, myeloid-related protein 8/14 (MRP 8/14), intercellular adhaesions molecule-1 (ICAM1), Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), retinol-binding protein 4 (RBP4) und migration inhibitory factor (MIF), die eine bedeutende Rolle in der Atherogenese spielen (Kim et al. 2010).

Zusätzlich beeinflussen Übergewicht und Adipositas die Struktur und Funktion des Herzens. So können Wong et al. (2004) aufweisen, dass linksventrikuläre Wandstärke sowie die Muskelmasse mit steigendem BMI zunehmen. Linksherzhypertrophie zeigt eine größere Prävalenz bei Übergewichtigen und Adipösen als bei Normalgewichtigen (Chinali et al. 2006). Des Weiteren wird der kindliche BMI als signifikanter Risikofaktor für die Entstehung einer Linksherzdilatation im Erwachsenenalter beschrieben (Haji et al. 2006).

### **2.2.2 Arterielle Hypertonie**

Der arterielle Bluthochdruck steht in engem Zusammenhang mit Übergewicht im Kindesalter. Zahlreiche Studien zeigen, dass ein erhöhter BMI in den ersten 19 Lebensjahren das Risiko für die Ausbildung einer arteriellen Hypertonie im Erwachsenenalter steigert (Park et al. 2012a, l'Allemand et al. 2008). Weiterhin haben Kinder, deren BMI über der 85. Perzentile liegt, ein etwa fünffach höheres Risiko im Laufe ihres Lebens einen Bluthochdruck zu entwickeln, verglichen mit Kindern, deren BMI unterhalb der 75. Perzentile rangiert (Field et al. 2005). In einer Metaanalyse von Friedemann et al. (2012) konnte ermittelt werden, dass der systolische Blutdruck in Ruhe bei übergewichtigen Kindern im Vergleich zu normalgewichtigen 4,54 mmHg höher liegt, bei adipösen Kindern sogar um 7,49 mmHg. Der diastolische Blutdruck ordnet sich ebenfalls um 2,57 mmHg beziehungsweise 4,06 mmHg höher ein. Die 24-Stunden-Blutdruckmessung der übergewichtigen Kinder erbrachte einen Blutdruckanstieg von 11,55 mmHg. Im Falle einer Vernachlässigung der Behandlung dieser erhöhten Blutdruckwerte hätten die übergewichtigen Kinder im Gegensatz zu normalgewichtigen Kindern ihres Alters bereits ein erhöhtes Risiko von 30-40% in Zukunft einen Schlaganfall zu erleiden oder eine ischämische Herzerkrankung zu entwickeln. Als mutmaßliche Faktoren für die Entstehung von arterieller Hypertonie können bei Übergewichtigen und Adipösen die Insulinresistenz, eine erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems, die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, eine Salzretention und veränderte Gefäßfunktionen eruiert werden (Kotchen 2010).

### **2.2.3 Diabetes mellitus**

Übergewicht beziehungsweise Adipositas kann über eine verminderte Insulinsensitivität, gestörte Glukosetoleranz und erhöhte Blutzuckerwerte bereits bei Kindern und Jugendlichen zu Diabetes mellitus Typ 2 führen (Rauh-Pfeiffer und Koletzko 2007). Die steigende Prävalenz des Übergewichtes wird als hauptsächliche Ursache für die steigende Inzidenz des Diabetes mellitus Typ 2 bei Kindern angesehen (Hardy et al. 2004). Invitti et al. (2003) zeigen in

einer Untersuchung von 710 adipösen Kindern eine Prävalenzrate von 4,5% bezüglich einer gestörten Glukosetoleranz. Weiterhin kann bei adipösen Kindern und Jugendlichen mit einer gestörten Glukosetoleranz in 52,2% eine Dyslipidämie und in 20,8% eine arterielle Hypertonie festgestellt werden (Raj 2012). Dies unterstreicht die Tatsache, dass ein Zusammenhang zwischen den kardiovaskulären Risikofaktoren in Verbindung mit Adipositas existiert. Die Insulinresistenz ist ebenfalls eng mit dem kindlichen Übergewicht assoziiert und zeigt einen Anstieg im Jugendalter. So weisen Kurtoğlu et al. (2010) eine Insulinresistenz bei 37% der adipösen Jungen und 27,8% der adipösen Mädchen im präpubertärem Alter nach. In der Gruppe der pubertierenden Jugendlichen wurden hingegen Raten von 61,7% und 66,7% ermittelt.

Diabetes mellitus Typ 2 ist heutzutage einer der wichtigsten Faktoren hinsichtlich Morbidität und Mortalität. Je früher ein Kind oder Jugendlicher daran erkrankt, desto höher ist die Inzidenz einer diabetischen Folgeerkrankung, wie Nephropathie, Retinopathie, Neuropathie oder Gefäßerkrankungen zu entwickeln (Daniels 2001). Erfolgt die Diagnosestellung des Diabetes mellitus bereits vor dem 20. Lebensjahr, kann die Lebenserwartung zwischen 15 und 27 Jahre kürzer sein als bei einem nichtdiabetischen Patienten (Hardy et al. 2004).

## **2.3 Prävention und Therapieoptionen**

Die aufgeführten gesundheitlichen Konsequenzen sowie die drastisch steigenden Prävalenzzahlen der Adipositas machen deutlich, dass es sich derzeit um eines der größten gesundheitspolitischen Probleme handelt. Die WHO (2000) setzt die nachteiligen medizinischen Auswirkungen der Adipositas mit denen des Rauchens gleich, was die Notwendigkeit von Therapie- und Präventionsmaßnahmen besonders hervorhebt.

### **2.3.1 Indikation**

Wie bereits erwähnt, werden als Ursache der Adipositas exogene und endogene Faktoren angesehen. Da die endogenen Ursachen derzeit keiner Therapie zugänglich sind, stellen die exogenen Ursachen die Basis für

Interventionen dar. Bewährt hat sich dabei eine Kombination aus Ernährungs-, Bewegungs- und Verhaltenstherapie (Wabitsch 2004, Spruijt-Metz 2011). Insbesondere für die langfristige Erhaltung der Gewichtsreduktion ist die Kombinationstherapie aus Bewegungs- und Ernährungstherapie am effektivsten (Völler et al. 2004). Die Verhaltenstherapie zielt vor allem auf die Schulung der Eltern und betreuenden Personen der Kinder ab (Ebbeling et al. 2002).

Indiziert ist eine Therapie grundsätzlich bei jedem adipösen Patienten. Weiterhin kann unter bestimmten Voraussetzungen das Halten des Gewichtes ausreichend sein (siehe Abbildung 3). Sind bereits Begleiterkrankungen aufgetreten, wird immer eine Therapie empfohlen (Barlow und Dietz 1998).

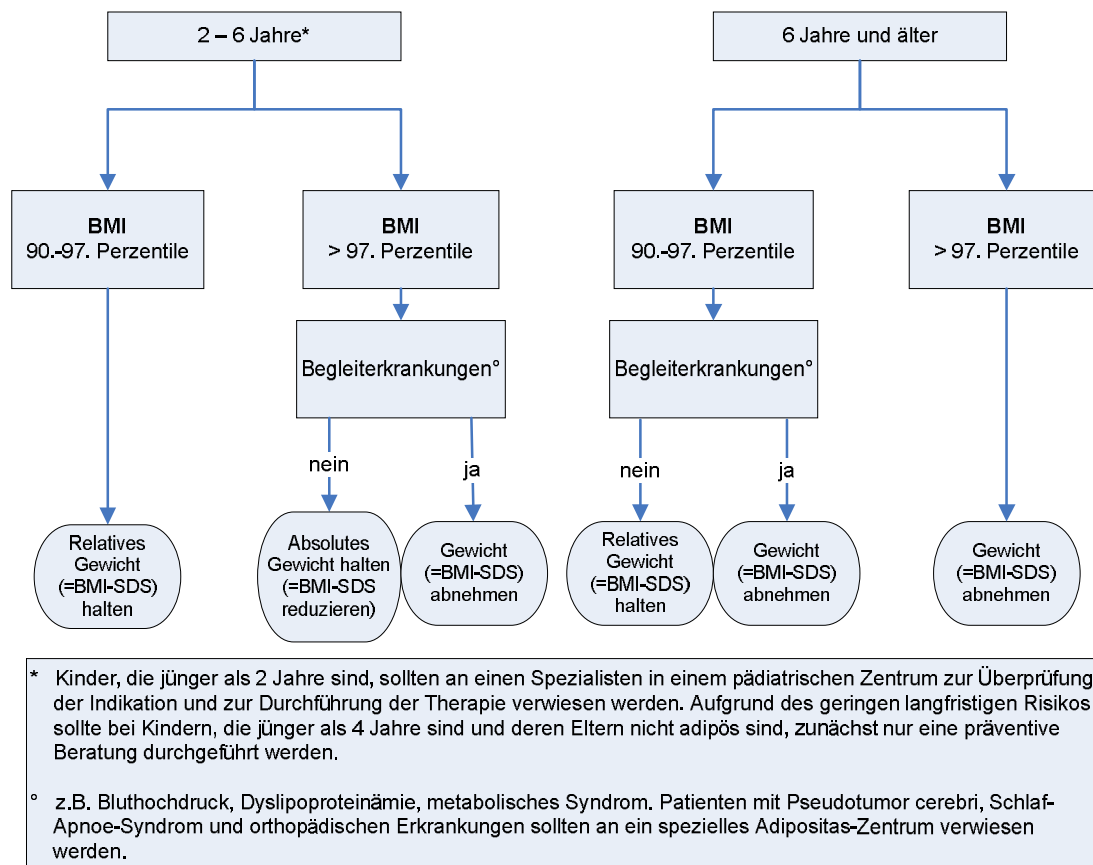


Abbildung 3: Indikation zu therapeutischen Maßnahmen (modifiziert nach Adipositas-Leitlinie der AGA (2012))

Medikamentöse und chirurgische Therapieverfahren werden im Kindes- und Jugendalter aufgrund der Nebenwirkungen sowie der begrenzten Erfahrungen in dieser Altersgruppe nicht empfohlen (Rauh - Pfeiffer und Koletzko 2007).

### **2.3.2 Ernährungstherapie**

Die Ernährungsumstellung sollte laut Adipositas-Leitline der AGA (2012) nach dem Konzept der „Optimierten Mischkost“ erfolgen. Diesem zufolge werden Lebensmittel mit hoher Nährstoffdichte (reich an Vitaminen, Spurenelementen, Mineralstoffen) empfohlen. Ziel ist es, auf diesem Wege mindestens 90% des Energiebedarfs und sämtlichen Nährstoffbedarf zu decken. Für die übrigen 10% des Energiebedarfs sind sogenannte „geduldete Lebensmittel“, wie zum Beispiel Süßigkeiten, möglich. Des Weiteren sollte sich die Nahrung zu 55% aus Kohlenhydraten, 30% aus Fett und 15% aus Proteinen zusammensetzen. Überdies wird ein regelmäßiger Mahlzeitenrhythmus mit drei Hauptmahlzeiten und bis zu zwei Zwischenmahlzeiten befürwortet (Kersting et al. 1993a, Kersting et al. 1993b). Die Auswirkungen einer Nahrungsumstellung zeigt die amerikanische CARDIA-Studie, bei der Jugendliche über einen Beobachtungszeitraum von 10 Jahren vermehrt Milch- und Getreideprodukte anstelle von gesättigten Fettsäuren zu sich nahmen. Sowohl ein geringeres Körpergewicht als auch eine geringere Prävalenz der Insulinresistenz und niedrigere Insulinspiegel waren die Folge (Ludwig et al. 1999, Pereira et al. 2002).

### **2.3.3 Bewegungstherapie**

Die zweite wesentliche Komponente zur Reduktion des Körpergewichtes ist die Erhöhung des Energieverbrauches mit dem Ziel einer negativen Energiebilanz. Dies kann einerseits in Form von Sport geschehen und andererseits durch die Steigerung der körperlichen Aktivität im Alltag erreicht werden. Nach aktuellen Studien sollten sich Vorschulkinder etwa zwei Stunden, ältere Kinder eine Stunde moderat bis intensiv bewegen (Timmons et al. 2007, Janssen 2007). Graf (2010) entwickelte diesbezüglich eine Kinder-Bewegungspyramide, aus der Empfehlungen zur Zeitdauer der täglichen körperlichen Aktivität entnommen werden können (Tabelle 4).



Eine weitere Studie belegt, dass bereits eine tägliche Zunahme der Bewegungszeit von 15 Minuten bei 12-Jährigen zu einer geringeren Körperfettmasse im Alter von 14 Jahren führt (Riddoch et al. 2009). Ferner sind wöchentlich mindestens 155 bis 180 Minuten Bewegung in mäßiger bis hoher Intensität notwendig, um die Körperfettmasse von Kindern zu reduzieren (Atlantis et al. 2006).

Tabelle 4: Empfehlungen nach der Kinder-Bewegungspyramide (aus Graf 2010)

	<b><i>Täglich in Minuten</i></b>	<b><i>Intensität</i></b>	<b><i>Beispiele</i></b>
Intensive Aktivitäten	2-mal 15 Minuten → insgesamt 30 Minuten	Schwitzen oder hecheln	Schulsport, Freizeitaktivitäten, zum Beispiel mit Freunden
Moderate Aktivitäten	4-mal 15 Minuten → insgesamt 60 Minuten	Nicht schwitzen, leicht hecheln	spielen, Inline-Skaten, Verstecken
Alltagsaktivitäten	6-mal 5-10 Minuten → mindestens 30-60 Minuten	-	Wegstrecken oder Botengänge aktiv erledigen, zum Beispiel Schulweg mit dem Fahrrad oder Roller absolvieren, Hausarbeiten erledigen
Inaktivität	<6 Jahre → 0 Minuten 6-12 Jahre → max. 1 Stunde >12 Jahre → max. 2 Stunden	-	Fernsehen, PC, Playstation

Zusammenfassend ist es von großer Bedeutung, dass Kinder und Jugendliche langfristig ihren Lebensstil verändern. Körperliche Aktivität sollte wieder mehr in den Tagesablauf integriert werden (Graf 2010). Überdies müssen sitzende Tätigkeiten, wie Fernsehen, Computerspielen und die Beschäftigung mit Videospielen, die ein Risiko für Adipositas und das metabolisches Syndrom darstellen, vermieden werden (Spruijt - Metz 2011). Auf diese Weise kann langfristig das Gewicht reduziert und somit das Risiko für kardiovaskuläre Folgeerkrankungen gesenkt werden (Ruiz und Ortega 2009).

### **2.3.4 Verhaltenstherapie**

Eine dritte bedeutende Komponente stellt die Verhaltenstherapie dar. Um Veränderungen im Ernährungs- und Bewegungsverhalten zu erzielen und langfristig zu erhalten, ist es von erheblicher Bedeutung, die Patienten zu schulen. Die Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter empfiehlt diesbezüglich Schulungsprogramme, um die Selbstwahrnehmung zu fördern, das Selbstbewusstsein und die Eigenakzeptanz zu stärken sowie einen ausgewogenen Lebensstil zu erarbeiten. Eltern und Bezugspersonen sollten in diesen Prozess integriert werden, um sie in ihrer Vorbildfunktion zu motivieren und zu schulen (Graf 2010). Wichtige Themen sind dabei die Aufnahme körperlicher Aktivität im Alltag, der Fernsehkonsum sowie gemeinsame Mahlzeiten (AGA 2012).

Zahlreiche Studien ermittelten, dass das Einbeziehen der Eltern eine enorme Rolle für den Therapieerfolg spielt. So zeigten Kinder und Jugendliche eine Reduktion ihres Übergewichtes, wenn die Familie entsprechend geschult wurde und anschließend couragiert mitwirkte, im Gegensatz zu Familien ohne Verhaltenstherapie (Danielsen et al. 2013, Flodmark et al. 1993, Israel et al. 1994, Epstein et al. 1990).

### **2.3.5 Abnehm- und Schulungsprogramme**

In Deutschland besteht die Möglichkeit zwischen zahlreichen ambulanten und stationären Therapieangeboten in Fachkliniken zu wählen (Wabitsch 2004). Dabei werden die ambulanten Therapieformen favorisiert, da hier das häusliche Umfeld besser integriert werden kann und somit ein langfristiger Erfolg wahrscheinlicher wird (Koletzko 2000). Die teilnehmenden Therapieeinrichtungen können auf der Internetseite der Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter unter [www.a-g-a.de](http://www.a-g-a.de) entnommen werden.

Ein einfaches und erfolgversprechendes ambulantes Therapieangebot, welches ohne weiteres im häuslichen Bereich eingesetzt werden kann, ist beispielsweise das Schulungsprogramm „PowerKids“. Es wurde von der Stoffwechselabteilung des Dr.-von-Haunerschen-Kinderspitals, der Abteilung

für Ernährungspsychologie der Universität Göttingen und der Abteilung für Psychologie der Universität Luton in Großbritannien mit finanzieller Unterstützung durch die Stiftung Kindergesundheit entwickelt. Dieses 12-wöchige Trainingsprogramm für übergewichtige Kinder im Alter von 8 bis 12 Jahren zielt auf die Stärkung der Eigenverantwortung und Modifikation von bisherigen Verhaltensweisen ab. Mithilfe von attraktiven und modernen multimedialen Materialien (Video, Taschenlexikon, Rubbelpunkte, Aufkleber) sollen die Kinder neue Verhaltensweisen hinsichtlich körperlicher Aktivität und Ernährungsgewohnheiten spielerisch erlernen. Als primäres Ziel wird nicht die Gewichtsreduktion, sondern die Stabilisierung verbesserter Lebensgewohnheiten deklariert (Koletzko 2000). Erste Evaluationen des Schulungsprogramms zeigten eine günstige Beeinflussung des Ernährungs- und Bewegungsverhaltens, sodass der BMI im Mittel signifikant um  $0,27 \pm 0,29$  fiel (Verwied - Jorky et al. 2011). Weiterhin konnte ein Absinken des BMI auch ein Jahr nach Beendigung des Programms verzeichnet werden, was die erfolgreiche Lebensstiländerung verdeutlicht (Koletzko 2005).

Ein stationäres Behandlungsprogramm wird empfohlen, wenn der Patient eine intensivere Schulung benötigt, als sie ambulant angeboten werden kann, beziehungsweise wenn dadurch eine selbstständige Mitarbeit des Patienten erreicht wird, die in der häuslichen Umgebung nicht möglich wäre. Ferner können Komorbiditäten einen stationären Aufenthalt erforderlich machen (Rauh-Peiffer und Koletzko 2007). Grundsätzlich beinhaltet eine stationäre Maßnahme die gleichen therapeutischen Grundpfeiler (Ernährungstherapie, Bewegungstherapie und Verhaltenstherapie) wie ambulante Programme, zeichnet sich jedoch durch eine viel intensivere Ganztagsbetreuung über 4 - 6 Wochen aus (Gruber und Hüls 2009).

## **2.4 Endotheliale Progenitorzellen**

### **2.4.1 Definition und Identifizierung**

Endotheliale Progenitorzellen sind Abkömmlinge einer pluripotenten Stammzelle mit der Fähigkeit zur Differenzierung in Endothelzellen. Ashara et

al. beschrieben erstmals im Jahre 1997 Blutzellen, die Oberflächenmoleküle von sowohl hämatopoetischen Stammzellen als auch Endothelzellen exprimierten. Diese Zellen waren in der Lage Endothelzellen auszubilden. Somit konnte die bis dahin gültige Lehrmeinung, dass eine Gefäßneubildung aus Stammzellen nur im embryonalen Organismus möglich sei, widerlegt werden. Kennzeichnend für endotheliale Progenitorzellen sind das hämatopoetische Oberflächenmolekül CD34 und der Endothelzellmarker vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGF-R2) (Urbich und Dimmeler 2004). Beide Moleküle werden jedoch sowohl auf hämatopoetischen Stammzellen als auch auf ausgereiften Endothelzellen exprimiert, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß. Somit ist ein weiteres Oberflächenmolekül notwendig, um die Progenitorzellen von den reifen Zellen abzugrenzen. Hierfür bewährt sich das Oberflächenmolekül CD133, das auf unreifen Subpopulationen ausgebildet wird (Handgretinger et al. 2003). Mittels dieser drei Oberflächenmoleküle können die EPC in-vivo identifiziert und quantifiziert werden (Peichev et al. 2000, Reyes et al. 2002). So sind Zellen des Knochenmarks hauptsächlich durch den Phänotyp CD133+/CD34+/VEGF-R2+ charakterisiert (Quirici et al. 2001). Peripher zirkulierende Zellen zeigen eine verminderte Expression von CD133 bei gleich bleibender Ausbildung der Oberflächenmoleküle CD34 und VEGF-R2. Bei reifen Endothelzellen hingegen kann der Phänotyp CD133-/CD34-/VEGF-R2+ detektiert werden (Yin et al. 1997). Es wird deutlich, dass mit der Minderung der Oberflächenmoleküle CD133 und CD34 eine Umwandlung der endothelialen Vorläuferzellen zu reifen Endothelzellen vollzogen wird.

Ferner kann zur Unterscheidung von knochenmarkständigen beziehungsweise zirkulierenden EPC und zirkulierenden Endothelzellen eine in-vitro-Analyse von Nutzen sein. Charakteristisch für die EPC ist die Fähigkeit zur Ausbildung von koloniebildenden Einheiten, sogenannten „late outgrowth“ EPC (Werner et al. 2004). Diese besitzen ein hohes Proliferationspotential und sind direkt an der Gefäßneubildung beteiligt (Steinmetz et al. 2009). Weiterhin werden die „early“ EPC beschrieben. Zu ihnen zählen die „colony-forming Unit (CFU-) Hill“

und die „circulating angiogenic cells“ (CAC). Beide können lediglich über parakrine Regulation an der Neoangiogenese teilhaben (Sieveking et al. 2008).

#### **2.4.2 Mobilisierung und Regulation der EPC**

Die EPC halten sich größtenteils im Knochenmark auf, sind dort an stromal-derived factor-1 (SDF-1) gebunden und werden physiologisch nur in geringen Mengen in das periphere Blutsystem abgegeben (Steinmetz et al. 2009). Neben dieser Ankerfunktion hat SDF-1 antiapoptotische Effekte und sorgt für die Proliferation der EPC (Lapidot et al. 2005, Cottler-Fox et al. 2003). An einer Freisetzung und Ausschwemmung sowie der Anbindung im Zielgewebe, dem sogenannten Homing, sind zahlreiche Zytokine und Hormone beteiligt. So sind für den vascular endothelial growth factor (VEGF), den stromal-derived factor-1 (SDF-1), den stem cell factor (SCF), den placenta growth factor (PIGF), den granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), den granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) sowie für Angiopoetin, Erythropoetin und Östrogene EPC-mobilisierende Effekte beschrieben (Werner et al. 2004, Hattori et al. 2001a, Takahashi et al. 1999, Ashara et al. 1997). Überdies konnte eine vermehrte Ausschwemmung der EPC nach körperlicher Aktivität nachgewiesen werden (Laufs et al. 2005). Natürliche Reize stellen Ischämie, Inflammation und Wundheilung in der Peripherie dar (Gill et al. 2001, Ledney et al. 1985). Weiterhin steigern HMG-CoA-Reduktase-Hemmer die Zahl der EPC im peripheren Blut (Llavadot et al. 2001, Vasa et al. 2001a, Walter et al. 2002). Die Freisetzung der EPC wird entscheidend durch Stickstoffmonoxid und das Zusammenspiel zwischen Osteoblasten und Osteoklasten reguliert (Özüyaman et al. 2005, Kollet et al. 2006). Diese nehmen über proteolytische Enzyme Einfluss auf die Ankerfunktion im Knochenmark, infolgedessen vermehrt EPC ausgeschwemmt werden. Die freigesetzten EPC bilden in der Peripherie typische endotheliale Marker, wie platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), VE-cadherin, von Willebrand factor, endothelial nitric oxide synthase (eNOS) und E-selectin, aus (Ashara et al. 1997, Kaushal et al. 2001). Der genaue Ablauf der Zelldifferenzierung sowie der Zeitpunkt, an dem sich die Vorläuferzelle zu einer reifen Endothelzelle entwickelt, sind bisher

nicht klar definiert. Ebenso wenig sind physiologische oder pathologische Faktoren bekannt, die auf das Homing Einfluss nehmen (Hristov et al. 2003).

### **2.4.3 Rolle der EPC in der Atherogenese**

Das Endothel bildet die innerste Wandschicht der Gefäße. Es ist durch zahlreiche Aufgaben gekennzeichnet, die zur Aufrechterhaltung der Gefäßfunktion essentiell sind. Liegen Störungen dieser wesentlichen Endothelfunktionen vor, wird von endothelialer Dysfunktion gesprochen. Sie gelten als Schlüsselereignis in der frühen Entstehung der Arteriosklerose (Kelm und Strauer 1999). Kardiovaskuläre Risikofaktoren erster Ordnung, wie Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie und Nikotinabusus, führen ebenso wie Hyperurikämie, Adipositas und Bewegungsmangel zu endothelialer Dysfunktion. Ohne entsprechende Reparaturmechanismen entsteht aus dem Gefäßschaden schrittweise ein arteriosklerotisches Plaque (Libby et al. 2009). Studien zeigen, dass ein enger Zusammenhang zwischen der Zahl endothelialer Progenitorzellen und der vaskulären Endothelfunktion besteht (Hill et al. 2003). So korreliert die Anzahl der zirkulierenden EPC invers mit dem Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren (Umemura et al. 2008, Vasa et al. 2001b). Des Weiteren zeigen EPC von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 eine eingeschränkte Migration und Funktionalität im Vergleich zu gesunden Patienten (Tepper et al. 2002). In Tiermodellen konnte festgestellt werden, dass exogen applizierte beziehungsweise endogen mobilisierte EPC die Atheroskleroseprogression hemmen und an der Reendothelialisierung beteiligt sind (Werner et al. 2002, Rauscher et al. 2003). Für endogen freigesetzte EPC ohne Mobilisierungstherapie konnten diese Mechanismen bisher nicht nachgewiesen werden (Werner et al. 2004). Es wird davon ausgegangen, dass kardiovaskuläre Erkrankungen zu eingeschränkten Funktionen der EPC führen und dadurch eine suffiziente Zellregeneration nicht mehr aufgezeigt werden kann.

#### **2.4.4 EPC und altersabhängige Veränderungen**

Verschiedene altersassoziierte Prozesse nehmen Einfluss auf die EPC Zahl im Laufe eines Lebens. So sinkt mit zunehmendem Alter die Kapazität der stressinduzierten EPC-Mobilisation (Geiger und Van Zant 2002). Ebenso ist bei älteren Patienten mit koronarer Herzerkrankung die Migrationsfähigkeit der EPC eingeschränkt (Vasa et al. 2001b). Das Alter beeinträchtigt zudem vermutlich das Überleben der zirkulierenden Progenitorzellen. Ein erhöhter Zellumsatz der EPC-Population, wie er bei Alterungsprozessen für gewöhnlich vorkommt, könnte dabei zu einer vermehrten Apoptoseanfälligkeit durch ein gestörtes Gleichgewicht zwischen pro- und antiapoptotischen Faktoren beziehungsweise einem Rückgang der antioxidativen Kapazität führen (Dimmeler und Vasa-Nicotera 2003). Weiterhin wird in Studien die Schlüsselrolle des VEGF in Bezug auf altersabhängige Veränderungen der EPC diskutiert. Möglicherweise führt zunehmendes Alter zu einer Reduktion des VEGF, was den limitierenden Faktor für die Mobilisierung, Differenzierung und das Überleben der EPC darstellen könnte (Rivard et al. 2000, Scheubel et al. 2003).

#### **2.4.5 EPC und Übergewicht**

Wie einige Studien zeigen, existiert ein Zusammenhang zwischen Körpergewicht und der EPC-Zahl. Im Erwachsenenalter konnten bei adipösen Personen signifikant weniger EPC nachgewiesen werden als bei normalgewichtigen Personen (MacEneaney et al. 2009). Es besteht dabei ein inverser Zusammenhang zwischen der EPC-Zahl und dem BMI sowie dem Hüftumfang (Müller-Ehmsen et al. 2008). Neben den quantitativen Veränderungen der EPC bei Adipositas zeigen sich eingeschränkte Funktionseigenschaften der EPC, wie verminderte Adhäsions- und Migrationsfähigkeiten sowie ein limitiertes angiogenetisches Potential (Heida et al. 2010).

Die Abhängigkeit der EPC vom Körpergewicht wird zudem in Studien deutlich, die den Einfluss einer Lebensstiländerung auf die EPC-Zahl untersuchen. So konnte gezeigt werden, dass die Reduktion des Körpergewichtes zum Anstieg

der EPC-Zahl führt (Müller-Ehmsen et al. 2008). Überdies sind funktionale Defekte bei entsprechendem Gewichtsverlust reversibel (Heida et al. 2010).

Ferner wurden weitere mit Übergewicht vergesellschaftete Komorbiditäten beschrieben, die zu einer Verminderung der EPC-Zahl führen. Dazu zählen beispielsweise die arterielle Hypertonie (Oliveras et al. 2008, Pirro et al. 2007), Diabetes mellitus Typ II (Egan et al. 2008, Fadini und Avogaro 2010) und die Hypercholesterinämie (Rossi et al. 2010).

Zusammenfassend weist die aktuelle Studienlage darauf hin, dass es zu einer Verminderung der EPC-Zahl im Alter, bei Übergewicht und beim Vorliegen weiterer kardiovaskulärer Risikofaktoren kommt. Folglich können Reendothelialisierung und Neovaskularisation durch die EPC nicht adäquat gewährleistet werden, weshalb das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen steigt.

#### **2.4.6 EPC im Kindes- und Jugendalter**

Untersuchungen zu EPC-Zahlen im Kindes- und Jugendalter sind insgesamt rar. Studien zu altersabhängigen Veränderungen der EPC erbrachten heterogene Ergebnisse. Jie et al. (2009) stellen im Vergleich zum Erwachsenenalter höhere Zellzahlen der EPC im Kindesalter fest und bestätigen damit die Annahme, dass es zu einer Verminderung der EPC im Alter kommt. Im Gegensatz dazu zeigen Jung et al. (2009), dass Jugendliche im Vergleich zu gesunden Erwachsenen mittleren Alters eine geringere Anzahl der EPC aufweisen. Andere Forschungsgruppen konnten keinen Unterschied in der EPC-Zahl zwischen jüngeren und älteren gesunden Erwachsenen registrieren (Heiss et al. 2005, Shaffer et al. 2006).

Als weiterer Einflussfaktor auf die EPC-Zahl wird auch bei Kindern und Jugendlichen das Körpergewicht diskutiert. Jung et al. (2009) ermittelten signifikant höhere EPC-Zahlen bei übergewichtigen Jugendlichen im Vergleich zu Normalgewichtigen gleichen Alters. Studien zu Auswirkungen einer Gewichtsreduktion bei adipösen Kindern treffen lediglich die Aussage einer verbesserten endothelialen Funktion (Fan et al. 2008, Kaufmann et al. 2008,



Woo et al. 2004). Veränderungen der EPC-Zahlen wurden in diesem Zusammenhang nicht untersucht.

Die für das Erwachsenenalter beschriebenen Zusammenhänge zwischen klassischen Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen und Veränderungen der EPC-Anzahl sind für das Kindes- und Jugendalter nur unzureichend untersucht. Allein Jung et al. (2009) analysieren diese Problematik, ohne einen Zusammenhang zwischen klassischen Risikofaktoren und der EPC-Anzahl festzustellen.

### **3 Ziele der Arbeit**

In der Literatur ist die Datenlage hinsichtlich Untersuchungen zu EPC im Kindes- und Jugendalter ungenügend. Lediglich Jung et al. (2009) quantifizieren EPC sowie die Zusammenhänge zwischen klassischen Risikofaktoren der Atherosklerose und der Anzahl endothelialer Progenitorzellen bei männlichen Jugendlichen. Ausgehend von diesem Kollektiv war es nun Ziel der Arbeit nach drei Jahren ein Follow-Up zu schaffen.

Endotheliale Progenitorzellen sollten erneut quantifiziert und im Verlauf beurteilt werden. Weiterhin war es das Ziel, die Zusammenhänge zwischen den klassischen Risikofaktoren der Atherosklerose und der EPC-Anzahl erneut zu evaluieren.

Besonderes Augenmerk lag auf der Rolle des Übergewichtes. Insbesondere die Gewichtsentwicklung im Verlauf und damit verbundene Veränderungen auf die Anzahl der EPC sowie der Einfluss auf andere Risikofaktoren (beispielsweise Hypertonie, Glukose- und Fettstoffwechsel) sollten untersucht werden. Zudem galt es morphologische und funktionelle Veränderungen am Herzen mittels Echokardiografie zu identifizieren.

Weiterhin war es von Bedeutung kurzfristige und langfristige Effekte des Abnehmprogramms der übergewichtigen jugendlichen Teilnehmer zu ermitteln und Empfehlungen daraus abzuleiten.

## 4 Patienten und Methoden

### 4.1 Patienten- und Kontrollgruppe

Die vorliegende Arbeit basiert auf einer Studie von Jung et al. (2009). Damals wurde eine vergleichende Analyse zwischen übergewichtigen und normalgewichtigen männlichen Jugendlichen vorgenommen. Die Einordnung in die jeweilige Gruppe erfolgte entsprechend ihrer BMI-Perzentilen. Bei einem BMI unterhalb der 90. alters- und geschlechtsspezifischen Perzentile zählten die Teilnehmer zur Kontrollgruppe, bei einem BMI größer oder gleich der 90. Perzentile wurden sie der Fallgruppe zugeteilt. Die Fallgruppe umfasste insgesamt 37 männliche übergewichtige Jugendliche im Alter von 13 bis 17 Jahren. Davon absolvierten zu dieser Zeit 24 Jugendliche ein Abnehmprogramm in Bad Kösen. Die verbleibenden 13 Jugendlichen wurden, wie auch alle Teilnehmer der Kontrollgruppe, an Gymnasien, Realschulen und Hauptschulen in Jena für die Studie gewonnen. Die Kontrollgruppe setzte sich aus 42 gleichaltrigen männlichen normalgewichtigen Jugendlichen zusammen.

Dieses Teilnehmerkollektiv bildete auch die Grundlage vorliegender Arbeit. Die Jugendlichen wurden zunächst mit Hilfe eines Anschreibens über den Sinn der Studie und den Ablauf der Untersuchungen kontaktiert. Anschließend erfolgte bei Interesse telefonisch eine Terminvereinbarung für die Untersuchungen im Universitätsklinikum Jena. Anhand des neu ermittelten BMI wurden sie der Fall- beziehungsweise Kontrollgruppe wie folgt zugeordnet:

**Fallgruppe: BMI  $\geq$  90. alters- und geschlechtsspezifische Perzentile**

**Kontrollgruppe: BMI < 90. alters- und geschlechtsspezifische Perzentile**

#### 4.1.1 Fallgruppe

Es beteiligten sich 11 der von Jung et al. (2009) untersuchten männlichen übergewichtigen Jugendlichen im Alter von 16 - 20 Jahren erneut an der Studie. Ihnen wurde nach entsprechender Aufklärung und Einwilligung im

Universitätsklinikum Jena unter sterilen Bedingungen venöses Vollblut abgenommen (siehe 4.3.1). Dieses wurde einerseits anschließend durchflusszytometrisch untersucht und andererseits wurden folgende Laborparameter bestimmt:

- großes Blutbild
- Serumelektrolyte (Natrium, Kalium, Kalzium, Chlorid)
- Blutlipide (Cholesterin, LDL, HDL, Triglyceride, LP(a))
- Kreatinin
- HbA1c
- CRP sensitiv.

Weiterhin wurden Taillen - und Hüftumfang der Teilnehmer erhoben sowie Größe, Gewicht, Blutdruck und Puls gemessen. Außerdem erfolgte eine Echokardiografie in der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Jena. Alle Teilnehmer wurden zudem bezüglich ihrer Ernährungs- und Sportgewohnheiten wie auch Kranken- und Familienanamnese in Hinsicht auf Herz- und Kreislauferkrankungen befragt. Des Weiteren machten die Teilnehmer Angaben zu Geburtsgewicht und Nikotinkonsum sowie zu den allgemeinen Themen Freizeit, Schule/Beruf und dem Abnehmprogramm.

Die Daten aller Teilnehmer dieser freiwilligen Studie wurden anonymisiert. Ein positives Votum der Ethikkommission lag vor.

#### **4.1.2 Kontrollgruppe**

Für die vorliegende Arbeit konnten 18 normalgewichtige männliche Jugendliche für die Kontrollgruppe gewonnen werden, die die gleiche Altersspanne wie die Teilnehmer der Patientengruppe aufwiesen. Es wurden dieselben Untersuchungen und Befragungen durchgeführt wie in der Patientengruppe. Alle Teilnehmerdaten wurden anonymisiert. Die Teilnahme fand freiwillig statt und die Ethikkommission hatte den durchgeführten Untersuchungen zugestimmt.

Die Einordnung der Teilnehmer in Fall- und Kontrollgruppe erfolgte in Einzelfällen abweichend zu Jung et al. (2009). Teilnehmer, die in der ersten Studie zur Fallgruppe zählten, wurden in dieser Studie aufgrund ihres BMI < 90. Perzentile der Kontrollgruppe zugeordnet. Ebenso gab es in der ersten Studie Teilnehmer, die sich in der Kontrollgruppe befanden und nun aufgrund ihres BMI  $\geq$  90. Perzentile der Fallgruppe zuzuordnen waren.

## 4.2 Materialien und Geräte

### 4.2.1 Verbrauchsmaterialien

Die für die durchflusszytometrischen Untersuchungen verwendeten Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Verwendete Verbrauchsmaterialien

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	<b>Hersteller</b>
Monovetten EDTA KE/9 ml	SARSTEDT, Deutschland
Monovetten EDTA K/2,7 ml	SARSTEDT, Deutschland
Monovetten Li-Hep-Gel/2,6 ml	SARSTEDT, Deutschland
Pipettenspitzen 200 µl, 1000 µl	Brand, Deutschland
Rundbodenröhrchen 5 ml (Analyseröhrchen)	Becton Dickinson, USA
Mikro-Schraubröhre 2 ml, Schraubverschluss	SARSTEDT, Deutschland
Konische Röhrchen 15 ml	greiner bio-one, Deutschland
Konische Röhrchen 50 ml	Becton Dickinson, USA
Reaktionsgefäß 1,5 ml	Brand, Deutschland
Handschuhe Microtouch SensiClean	Ansell, UK
Desinfektionsspray Descosept AF	Dr. Schumacher GmbH, Deutschland

#### 4.2.2 Chemikalien

Die für die durchflusszytometrischen Untersuchungen verwendeten Chemikalien sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Verwendete Chemikalien

<b>Chemikalien</b>	<b>Hersteller</b>
Ammoniumchlorid 10x	Sigma, Deutschland
Dulbecco's PBS 1x	PAA, Österreich
FCS Standard Quality	PAA, Österreich
Destilliertes Wasser	
- Milli-Q	Millipore, Frankreich
- Steri Varioklav 135S	Thermo Scientific, USA
FcR Blocking Reagent	Miltenyi Biotec, Deutschland
Annexin V	Biozol Diagnostica Vertrieb GmbH, Deutschland
7-AAD	Biozol Diagnostica Vertrieb GmbH, Deutschland
Binding Puffer	Biozol Diagnostica Vertrieb GmbH, Deutschland
BD Calibrite™ APC Beads	Becton Dickinson, USA
BD FACS Flow™	Becton Dickinson, USA
BD FACS Rinse™	Becton Dickinson, USA
BD FACS Clean™	Becton Dickinson, USA

#### 4.2.3 Antikörper

##### Antikörper CD34

Fluoreszenzmarkierung: FITC

Spezifität/Rezeptor: anti-human, Antigen CD34, Epitop Klasse III

Herkunft: monoklonaler Antikörper der Maus

Klon: AC136

Isotyp: Maus IgG<sub>2a</sub>  
Lagerung: bei 2-8°C, lichtgeschützt  
Hersteller: Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach,  
Deutschland

### **Antikörper CD133**

Fluoreszenzmarkierung: PE  
Spezifität/Rezeptor: anti-human, Antigen CD133, Epitop 2  
Herkunft: monoklonaler Antikörper der Maus  
Klon: 293C3  
Isotyp: Maus IgG<sub>2b</sub>  
Lagerung: bei 2-8°C, lichtgeschützt  
Hersteller: Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach,  
Deutschland

### **Antikörper VEGF R2**

Fluoreszenzmarkierung: APC  
Spezifität/Rezeptor: anti-human, Antigen VEGF Rezeptor-2  
Herkunft: monoklonaler Antikörper der Maus  
Klon: 89106  
Isotyp: Maus IgG<sub>1</sub>  
Lagerung: bei 2-8°C, lichtgeschützt  
Hersteller: RnDSystems, Minneapolis, USA

### **Isotypkontrolle IgG<sub>1</sub>**

Fluoreszenzmarkierung: FITC  
Spezifität/Rezeptor: KLH  
Herkunft: monoklonaler Antikörper der Maus  
Klon: IS-21F5  
Isotyp: Maus IgG<sub>1</sub>

Lagerung: bei 2-8°C, lichtgeschützt  
Hersteller: Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach,  
Deutschland

#### **Isotypkontrolle IgG<sub>2b</sub>**

Fluoreszenzmarkierung: PE  
Spezifität/Rezeptor: KLH  
Herkunft: monoklonaler Antikörper der Maus  
Klon: IS6-11E5.11  
Isotyp: Maus IgG<sub>2b</sub>  
Lagerung: bei 4-8°C, lichtgeschützt  
Hersteller: Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach,  
Deutschland

#### **Isotypkontrolle APC**

Fluoreszenzmarkierung: APC  
Spezifität/Rezeptor: KLH  
Herkunft: monoklonaler Antikörper der Maus  
Klon: 11711  
Isotyp: Maus IgG<sub>1</sub>  
Lagerung: bei 2-8°C, lichtgeschützt  
Hersteller: RnDSystems, Minneapolis, USA

#### **4.2.4 Geräte**

Die verwendeten Geräte für die durchflusszytometrischen Untersuchungen sowie für die Erhebung der Probandenmesswerte sind in Tabelle 7 aufgeführt.



Tabelle 7: Verwendete Geräte

<b>Geräte</b>	<b>Hersteller</b>
Pipetten	
- 0,5 µl - 10 µl	Eppendorf, Deutschland
- 2 µl - 20 µl	Eppendorf, Deutschland
- 10 µl - 100 µl	Eppendorf, Deutschland
- 100 µl - 1000 µl	Eppendorf, Deutschland
Auslaufpipetten 5 ml, 10 ml	Greiner bio-one, Österreich
Pipetboy	Integra Bioscience, Deutschland
Zentrifugen	
- Rotina 420R	Hettich, Deutschland
- Labofuge 400R	Heraeus Instruments, Deutschland
FacsCalibur™	Becton Dickinson, USA
Sicherheitswerkbank Hera Safe	Heraeus Instruments, Deutschland
Vacusaft	Integra Bioscience, Deutschland
Reagenzglasständer	Nalgene, USA
Kühlschränke	
- Vitalcool	Foron, Deutschland
- glass line	Liebherr, Deutschland
Vortex-Genie 2	Scientific Industries, USA
Computer Mac Pro	Apple, USA
Drucker hp business injekt 2300	Hewlett-Packard, USA
Stoppuhr	Oregon Scientific, Deutschland
Maßband	Hoechstmass® Balzer GmbH, Deutschland
Blutdruckmanschette Riester Minimus III®	Rudolf Riester GmbH, Deutschland
Stethoskop Classic II S.E.	3M™ Littmann®, USA
Echokardiografiegerät Aplio/PowerVision 8000	Toshiba, Japan

#### 4.2.5 Durchflusszytometrie

Für die vorliegende Arbeit wurde das Gerät FACSCalibur™ der Firma Becton Dickinson verwendet, welches mit zwei Laser mit Anregungswellenlängen von 488 nm und 635 nm ausgestattet ist. Zur Datenanalyse diente das Programm CellQuest Pro der Version 4.0.2.

Die Durchflusszytometrie stellt eine Möglichkeit dar physikalische und molekulare Eigenschaften von Partikeln zu analysieren sowie quantitativ zu erfassen. Dies geschieht anhand von Zellgröße, Granularität und der Ausprägung membranständiger Oberflächenmerkmale, wenn sie vor der Messung mit Hilfe von fluoreszenzmarkierten Antikörpern angefärbt wurden.

Die Grundlage der zytometrischen Messung beruht auf der Detektion von emittierten Photonen von Zellen, die an einem gebündelten Laserstrahl vorbeigeleitet wurden. Dazu werden die Zellen durch Eintauchen der Probennadel in das Analyseröhrchen in eine Durchflusszelle des FACS-Gerätes gesaugt. Dort bilden sie aufgrund der hydrodynamischen Fokussierung eine Art Perlenkette (siehe Abbildung 4), sodass alle Zellen einzeln den Laserstrahl im rechten Winkel passieren können.

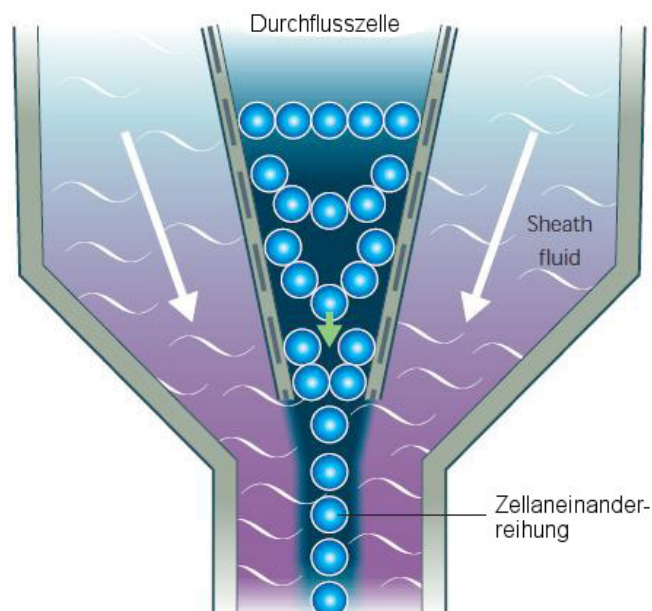


Abbildung 4: Hydrodynamische Fokussierung (Rahman et al. 2014).

Je nach Größe und Beschaffenheit der Zellen wird das Licht unterschiedlich gestreut. Mittels Vorwärtstreulicht (Forward Scatter, FSC), welches bis zu 20° zur Laserstrahlachse abgelenkt werden kann, und Seitwärtstreulicht (Side Scatter, SSC), welches um 90° zur Laserstrahlachse abgelenkt wird, ist es bereits möglich zwischen Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten unterscheiden zu können. Dabei gibt das Vorwärtstreulicht Auskunft über die Zellgröße beziehungsweise die Unterscheidung, ob Zelltrümmer oder lebende Zellen vorliegen. Das Seitwärtstreulicht hingegen dient als Maß für die Zellgranularität.

Um genauere Aussagen über die Frequenz der Zellpopulationen in einer Zellsuspension zu treffen, werden fluoreszenzmarkierte monoklonale beziehungsweise polyklonale Antikörper eingesetzt, wie es auch bei dieser Arbeit der Fall war. Wird solch ein Fluoreszenzfarbstoff in der Durchflusszelle während der durchflusszytometrischen Messung vom Laserstrahl getroffen, werden dessen Elektronen auf ein höheres Energieniveau angehoben. Dieses Energieniveau kann allerdings nur für wenige Nanosekunden gehalten werden. Danach fallen die Elektronen wieder auf ihr ursprüngliches Energieniveau, welches stabiler ist, zurück. Dabei emittieren sie spektral unterschiedliche Lichtsignale (siehe Abbildung 5), die von Photomultiplier registriert und in ein elektrisches Signal umgewandelt werden. Die Detektoren, auch Fluorescence - Channels genannt (FL1 - FL4), unterscheiden sich in der Erkennung der Lichtsignale. Beispielsweise wird bei der Anregung der Fluoreszenzfarbstoffe mit einem 488-nm-Argon-Laser durch FL1 ein grünes Lichtsignal (525 nm, FITC-konjugierter Antikörper) detektiert, wohingegen FL2 ein gelbes Lichtsignal (578 nm, PE-konjugierter Antikörper) registriert. Durch die Verwendung von Fluorochromen, die Lichtsignale zu unterschiedlichen Wellenlängen emittieren, wird somit eine Analyse beziehungsweise Zählung der Zellen in der Zellsuspension möglich. Die umgewandelten elektrischen Signale werden am Ende der Messung als digitalisierter Datensatz gespeichert.

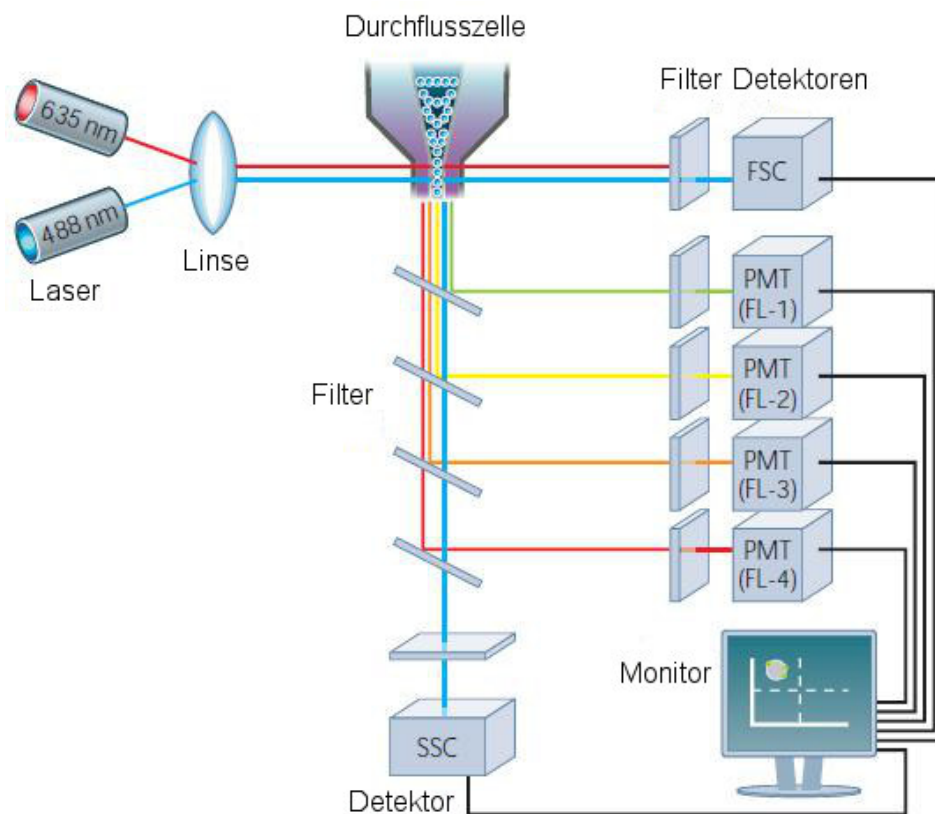


Abbildung 5: Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers (modifiziert nach Rahman et al. 2014).

Eine Tatsache, der Beachtung geschenkt werden sollte, ist die Korrektur der spektralen Überlappung von Fluoreszenzfarbstoffen (Kompensation). Bei Verwendung verschiedener Fluoreszenzfarbstoffe kann es zu einer Überlappung der Emissionsspektren kommen. Die detektierten Fluoreszenzsignale sind Mischungen mit verschiedenen Farbstoffanteilen, die zu falsch positiven Messwerten führen. Um dieses Problem zu vermeiden, wird eine prozentuale Korrektur der Messdaten vor der Digitalisierung und Speicherung durchgeführt.

Für die Auswertung der Messdaten stehen ein- und zweidimensionale grafische Darstellungen zur Verfügung. Eindimensionale Darstellungen werden zur Veranschaulichung von Intensitätsverteilungen eines Parameters genutzt und als Histogramme bezeichnet. Die zweidimensionale Darstellung kann mit Hilfe von Dot-Plots erfolgen. Dazu werden auf sowohl der x- als auch y-Achse

die Intensitätsverteilungen zweier Messparameter aufgetragen. Anschließend wird jede gemessene Zelle entsprechend ihrer Intensität als Punkt im Koordinatensystem erfasst. Dadurch kann eine Aussage getroffen werden, ob eine Korrelation zwischen der Expression der aufgetragenen Messparameter besteht (Diagonale) oder ob beide Messparameter unabhängig voneinander verteilt sind (Populationen von Zellen). Des Weiteren wird zur Quantifizierung der Zellen eine Quadrantenanalyse eingesetzt, bei der durch Einführen von Schwellen oberhalb der negativen Population der prozentuale Anteil der Zellen in den 4 Populationen (doppelt positiv, doppelt negativ oder einfach positiv für je einen analysierten Parameter) ermittelt werden kann.

#### **4.2.6 Software**

FACSCalibur™:	Betriebssystem Apple 9.2	Apple Mac OS
	CellQuest™-Pro Version 4.0.2	BD Biosciences
Statistik:	SPSS 19.0	SPSS Inc.
	Microsoft Office Excel©	Microsoft Cooperation

### **4.3 Experimentelle Methoden**

#### **4.3.1 Gewinnung der Blutproben**

Jedem Probanden wurden unter sterilen Bedingungen 6 Monovetten venöses Blut abgenommen. Der Verwendungszweck dieser 6 Monovetten ist in der folgenden Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Blutproben und deren Verwendungszweck

<b>Monovetten</b>	<b>Verwendungszweck</b>
1 Monovette EDTA KE/9 ml	Abzentrifugation des Plasmas
3 Monovetten EDTA K/2,7 ml	1. Monovette: großes Blutbild 2. Monovette: HbA1c 3. Monovette: Gewinnung der EPCs
2 Monovetten Li-Hep-Gel/2,6 ml	1. Monovette: Elektrolyte, Lipide, CRP sens. 2. Monovette: Messung apoptotischer Zellen

Die verwendeten Monovetten waren zum Einen mit EDTA beschichtet, welches für die Gerinnung essentielle Kalziumionen bindet, und zum Anderen mit dem Antikoagulans Heparin in Form des Lithiumsalzes versehen. Weil dadurch die Blutzellmorphologie wenig verändert wurde und zusätzlich die Gerinnung des Blutes nicht stattfinden konnte, blieben die Proben über einen längeren Zeitraum analysierbar. Um eine Lyse zu vermeiden, wurden die Blutproben kühl und lichtgeschützt aufbewahrt.

#### 4.3.2 Herstellung verwendeter Lösungen

##### Lyselösung

Im Blut befinden sich neben den Leukozyten, die für die FACS-Analyse genutzt werden, auch Erythrozyten. Diese treten etwa eintausend Mal häufiger als Leukozyten auf und führen über ihre unspezifischen Antikörperbindungen zu ungenauen Ergebnissen. Aufgrund dessen war es wichtig, dass die Erythrozyten lysiert wurden. Dazu kam Ammoniumchlorid zur Anwendung, welches durch den kontinuierlichen Einstrom von  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$  in die Erythrozyten, die Lyse bewirkte.

Die Herstellung der 10fach konzentrierten Ammoniumchloridlösung wurde nach folgenden Vorgaben vollzogen:

$\text{NH}_4\text{Cl}$	41,5 g
$\text{KHCO}_3$	5,0 g
EDTA	0,179 g
Destilliertes Wasser	500 ml.

Zur Herstellung der Lyselösung (1fach konzentriert) wurde pro Proband 1 ml 10fach konzentrierte Ammoniumchloridlösung in ein konisches Röhrchen pipettiert und anschließend mit 9 ml destilliertem Wasser verdünnt sowie gut vermischt. Die Lyselösung wurde für jeden Probanden neu angesetzt und immer vollständig aufgebraucht.

### **Phosphat-Buffered-Saline (PBS)/ Fetal Calf Serum (FCS)**

Die phosphatgepufferte Salzlösung ermöglicht einen konstanten pH-Wert von 7,4, da sie durch die Abgabe von Phosphationen kleine Schwankungen des pH-Wertes abpuffern kann. Der pH-Wert der Lösung ist aufgrund dessen dem osmotischen Druck im menschlichen Organismus sehr nah. PBS eignet sich demzufolge gut als Trägersubstanz für die zu untersuchenden Zellen.

Das Fetale-Kälber-Serum besitzt förderliche Eigenschaften auf Zellkulturen und wird deshalb bei anspruchsvollen Zellen als Zusatz eingesetzt.

Zur Herstellung von PBS/FCS wurden 10 ml FCS zu 500 ml PBS pipettiert. Nach guter Durchmischung erfolgte die Lagerung kühl und lichtgeschützt. PBS/FCS wurde je nach Bedarf unter sterilen Bedingungen in ein konisches Röhrchen abgefüllt.

### **1x Binding Puffer**

Der Binding Puffer für die durchflusszytometrische Untersuchung der Apoptose lag in einer 10fach konzentrierteren Form vom Hersteller vor als benötigt. Zur Verdünnung wurden pro Proband 260 µl des 10fach konzentrierten Binding Puffers mit 2340 µl gekühltem destillierten Wasser in einem konischen Röhrchen vermengt und anschließend bis zur Verwendung auf Eis gestellt.

### **4.3.3 Herstellung der Antikörperverschüttung**

#### **Antikörper CD133/2 (293C3)-PE**

Die Verschüttung des Antikörpers CD133 erfolgte im Verhältnis 1:5 (Antikörper:PBS). Dazu wurden 16 µl PBS in ein braunes Reaktionsgefäß gegeben und 4 µl Antikörper CD133 hinzupipettiert. Nachfolgend wurde die

Verdünnung auf dem Vortexer gut gemischt und lichtgeschützt bei 4°C aufbewahrt.

### **Isotypkontrolle Maus-IgG<sub>2b</sub>**

Die Isotypenkontrolle IgG<sub>2b</sub> wurde im Verhältnis 1:60 mit PBS verdünnt. Zur Herstellung wurden 59 µl PBS sowie 1 µl Antikörper IgG<sub>2b</sub> in ein braunes Reaktionsgefäß pipettiert und gut vermischt. Die Lagerung erfolgte bei 4°C lichtgeschützt.

Um Pipettierfehler aufgrund der geringen Antikörpermengen zu vermeiden, erfolgte die Ansetzung beider Verdünnungen stets in größeren Mengen.

## **4.3.4 Arbeitsschritte zur Probenpräparation**

### **Vorbereitungen**

Für die EPC-Analyse waren drei Analyseröhrchen notwendig: eine Negativkontrolle, eine Isotypenkontrolle und das Röhrchen mit den zu bestimmenden EPC.

Die Negativkontrolle wurde als Kontrollansatz mitgeführt, um die Hintergrundfluoreszenz ermitteln zu können, welche bei der Auswertung der durchflusszytometrischen Analyse von Bedeutung war (siehe Auswertung der EPC-Analyse in 4.3.56). Die Probenpräparation erfolgte identisch zur Präparation des EPC-Probenansatzes bis auf das Fehlen der Anfärbung mittels Fluoreszenzfarbstoffen.

Die mitgeführte Isotypenkontrolle diente der Prüfung der Antikörperspezifität. Die Primärantikörper (CD34, CD133, VEGF R2) können unspezifische Bindungen an Fc-Rezeptoren eingehen, was zu falsch positiven Ergebnissen führen würde. Um solche unspezifischen Bindungen zu erkennen, wurden zur Isotypenkontrolle Antikörper verwendet, die die gleiche Markierung aufwiesen sowie dem gleichen Isotyp entsprachen wie der Primärantikörper, allerdings nicht in der Lage waren, spezifische humane Epitope zu erkennen und daran zu binden.



Die beiden verbliebenen Analyseröhrchen wurden für die Apoptosemessung benötigt: eine Negativkontrolle sowie ein Röhrchen für CD34 markierte Zellen. Die Probenpräparation für die Apoptosemessung glich der der EPC-Analyse bis zur Zugabe der Antikörper und konnte deshalb bis zu diesem Präparationsschritt parallel durchgeführt werden.

### **Erythrozytenlyse**

Zu Beginn wurde in alle 5 Analyseröhrchen 300 µl Blut pipettiert. Dabei war darauf zu achten, dass für die Apoptosemessung heparinisiertes Blut verwendet wurde, da Annexin V ein kalziumabhängiges Protein ist. Anschließend erfolgte die Zugabe von 1 ml Lyselösung in jedes Röhrchen und gründliches Mischen auf dem Vortexer. Nach einer Inkubationszeit von 12 Minuten bei Raumtemperatur wurden die Proben bei 4°C für eine Zeit von 8 Minuten bei 2200 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde vorsichtig abpipettiert, um das Zellsediment nicht zu beeinträchtigen. Danach folgte der zweite Lyseschritt, bei dem erneut je 1 ml Lyselösung in die 5 Analyseröhrchen gegeben und für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Es schlossen sich die Zentrifugation (2200 Umdrehungen/Minute, 4°C, 8 Minuten) sowie das Abnehmen des Überstandes an.

Nachfolgend wurde zu jeder Probe 1 ml PBS/FCS pipettiert, mittels Pipette mehrmals vorsichtig resuspendiert und erneut zu den genannten Einstellungen zentrifugiert sowie der Überstand verworfen.

### **Fc-Rezeptorenblockierung**

Da einige weiße Blutzellen Fc-Rezeptoren an ihrer Oberfläche exprimieren, an denen die Maus-Antikörper unspezifisch binden würden, wurden im nächsten Präparationsschritt je 20 µl FcR Blocking Reagent (humanes unmarkiertes IgG) in jedes Analyseröhrchen hinzugegeben, welches diese unspezifischen Bindungsmöglichkeiten blockiert. Durch die somit verbesserte Reinheit der Zielzellen erhöhte sich die Spezifität der Antikörper. Des Weiteren wurden je

40 µl PBS/FCS in alle Analyseröhrchen gegeben und der Ansatz anschließend 15 Minuten bei Raumtemperatur und Dunkelheit (in einem Schrank) inkubiert.

### **Zugabe der Antikörper für die EPC-Analyse**

Zur Anfärbung der endothelialen Progenitorzellen wurden 10 µl des Antikörpers CD34, 10 µl des mit PBS verdünnten (1:5) CD133 Antikörpers sowie 10 µl des Antikörpers VEGF R2 (KDR) zum Röhrchen mit der zu bestimmenden CD34/CD133/VEGFR2-Probe hinzugegeben.

In das Analyseröhrchen der Isotypenkontrolle wurden 10 µl IgG<sub>1</sub>-FITC, 10 µl des mit PBS verdünnten (1:60) IgG<sub>2b</sub>-PE und 5 µl IgG<sub>1</sub>-APC pipettiert.

Die Negativkontrolle wurde nicht mit Antikörpern angefärbt. Es wurde bei diesem Präparationsschritt lediglich 950 µl PBS/FCS hinzugefügt.

Im Anschluss wurden die Präparationsansätze im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wurde zu der Isotypkontrolle und zu den CD34/CD133/VEGFR2-Proben je 1 ml PBS/FCS zugesetzt, alle Analyseröhrchen zentrifugiert (2200 Umdrehungen/Minute, 4°C, 8 Minuten) sowie der Überstand verworfen. Im nun letzten Präparationsschritt vor der Messung der Proben am FACSCalibur™ wurde das Zellsediment durch 500 µl PBS/FCS in der Negativkontrolle, in der Isotypenkontrolle sowie in der CD34/CD133/VEGFR2-Probe sorgfältig aufsuspendiert.

### **Zugabe der Antikörper für die Apoptosemessung**

Nach der oben erwähnten Blockierung der Fc-Rezeptoren sowie der 15-minütigen Inkubation der Analyseröhrchen wurden die Zellen in den Ansätzen der Apoptosemessung ebenfalls durch Zugabe von 10 µl des Antikörpers CD34-FITC in eines der beiden Analyseröhrchen angefärbt. Für die folgenden Präparationsschritte diente es als CD34 markiertes Probenröhrchen. In das andere Analyseröhrchen, welches die Negativkontrolle darstellte, wurden 950 µl PBS/FCS pipettiert. Die folgende Inkubation dauerte eine Stunde bei 4°C im Kühlschrank. Anschließend wurde zum Probenanalyseröhrchen 1 ml PBS/FCS hinzugegeben, beide Analyseröhrchen wurden zentrifugiert (2200

Umdrehungen/Minute, 4°C, 8 Minuten) und der Überstand vorsichtig abpipettiert.

In den nächsten Präparationsschritten erfolgte das Aufsuspendieren des Pellets in 1x Binding Puffer. Dazu wurden 200 µl 1x Binding Puffer zur Negativkontrolle sowie 400 µl 1x Binding Puffer zum CD34 markierten Probenanalyseröhrchen gegeben. Danach wurden die Ansätze in 5 neue Analyseröhrchen verteilt, um die Zellen später unterschiedlich anfärben zu können. Aus der Negativkontrolle wurden 100 µl des Ansatzes in ein neues Analyseröhrchen gegeben. Der Ansatz aus dem Probenanalyseröhrchen wurde mit jeweils 100 µl auf 4 neue Analyseröhrchen aufgeteilt.

Um nun die apoptotischen beziehungsweise die nekrotischen Zellen anzufärben, wurden Annexin V - R-phycoerythrin (Annexin V - R-PE) und 7-Aminoactinomycin (7-AAD) benötigt. In 2 der 4 CD34 markierten Analyseröhrchen wurden je 10µl Annexin V-R-PE pipettiert und hinterher 15 Minuten zum Inkubieren lichtgeschützt auf Eis gestellt. Danach wurde in alle 5 Analyseröhrchen 380 µl 1x Binding Puffer zugegeben. Im letzten Präparationsschritt wurde sowohl in eines der beiden Annexin V-R-PE markierten Ansätze als auch in das Analyseröhrchen, dass bisher nur CD34 markiert war, 7-AAD hinzugegeben, sodass die in Tabelle 9 dargestellten Probenansätze entstanden.

Tabelle 9: Probenansätze der Apoptosemessung

<b>Analyseröhrchen</b>	<b>Zusammensetzung</b>
1	Negativkontrolle
2	10 µl CD34-FITC, 380 µl 1x Binding Puffer
3	10 µl CD34-FITC, 380 µl 1x Binding Puffer, 10 µl Annexin V-R-PE
4	10 µl CD34-FITC, 380 µl 1x Binding Puffer, 10 µl 7-AAD
5	10 µl CD34-FITC, 380 µl 1x Binding Puffer, 10 µl Annexin V-R-PE, 10 µl 7-AAD

Annexin V gehört zu den kalziumabhängigen phospholipidbindenden Proteinen. Vor allem an die Phosphatidylserine (PS) der Zellmembranen bindet Annexin V mit hoher Affinität. Diese befinden sich in lebenden Zellen auf der Innenseite der Zellmembran. Erst zu Beginn der Apoptose werden die PS auf die Außenseite der Zellmembranen versetzt und Annexin V kann daran binden. Da das Annexin V mit R-phycoerythrin (R-PE) konjugiert wurde, können frühe Stadien der Apoptose detektiert werden. Allerdings kann bei nekrotischen Zellen die Zellmembran durchlässig werden. Annexin V ist in der Lage in die Zellen einzudringen und auf der Innenseite der Zellmembran an PS anzubinden. Dadurch kann bei der Auswertung keine Aussage mehr getroffen werden, ob es sich um apoptotische oder nekrotische Zellen handelt. Deshalb wird eine Doppelfärbung mit Annexin V und 7-AAD durchgeführt. 7-AAD ist ein Farbstoff, der in der DNA zwischen Cytosin und Guanin spezifisch interkaliert, dabei seine Fluoreszenzeigenschaften ändert und nur in Zellen mit durchlässiger Zellmembran eindringt (nekrotische Zellen). Somit ist es nach der durchflusszytometrischen Untersuchung möglich, eine Aussage zu den apoptotischen Zellen zu treffen. Es handelt sich um lebende Zellen, wenn beide Färbungen negativ sind. Apoptotische Zellen sind gekennzeichnet durch die positive Färbung mit Annexin V und eine negative Färbung mit 7-AAD. Ist die Färbung sowohl für Annexin V als auch für 7-AAD positiv, liegen nekrotische Zellen vor.

#### **4.3.5 Ablauf der durchflusszytometrischen Analyse**

##### **Analyse der EPCs**

Zu Beginn, meist während der Inkubationszeit der Antikörper von einer Stunde, wurde das Durchflusszytometer FACSCalibur™ am Hauptschalter eingeschaltet. Anschließend konnte der Computer gestartet und der Druckregler am FACS angeschaltet werden. Am Computer wurde das Programm CellQuest Pro geöffnet. Es folgte die Kalibrierung des Durchflusszytometers mittels eines Tropfens BD Calibrite™ APC Beads in 1ml PBS/FCS.

Nachdem die Instrument Settings geladen und der Speicherort des digitalen Datensatzes festgelegt worden waren, musste die Einstellung der zu zählenden Zellzahlen erfolgen. Für das Gate1 (Analyserahmen), welches mit der Region R1 (Lymphozyten) gleichgesetzt wurde, sollten 250000 Zellen gezählt werden. Anschließend konnte der Messvorgang beginnen.

Zunächst wurde der Messfuß zur Seite geklappt und das Röhrchen mit der FACS Rinse-Lösung beiseite gestellt. Danach wurde am FACS die „PRIME“-Taste betätigt und gewartet bis das Gerät automatisch in den „STANDBY“-Modus umschaltete. Durch Betätigen der „RUN“-Taste erfolgte die Aktivierung des „RUN“-Modus, wodurch der Ansaugvorgang begann. Nun konnte das erste Analyseröhrchen, die Negativkontrolle, gemessen werden, indem im CellQuest Pro-Programm der Zählvorgang mittels „Aquire“ gestartet wurde. Es folgten die Analyseröhrchen mit der Isotypkontrolle sowie die CD34/CD133/VEGF-R2-Probe. Die Messungen wurden mit der Durchflussgeschwindigkeit „medium“ oder „high“ durchgeführt. Der Messvorgang endete automatisch wenn im Analyseröhrchen 250000 Zellen im Gate1 ausgezählt waren beziehungsweise manuell wenn sich nicht ausreichend viele Zellen in der Suspension befanden.

Nach der letzten Messung erfolgte die Desinfektion und Reinigung des Durchflussszytometers mittels BD FACS Clean, welches mehrere Minuten bei offenem Messfuß unter die Probennadel gehalten wurde. Mit BD FACS Rinse-Lösung folgte eine abschließende Spülung, bevor das FACS in den „STANDBY“-Modus gebracht und der Druckregler wieder zurückgestellt wurde.

### **Analyse der apoptotischen Zellen**

Der Ablauf der durchflussszytometrischen Analyse erfolgte in der gleichen Weise wie der Ablauf der EPC-Analyse. Die Instrument Settings konnten beibehalten werden, nur die maximal zu zählenden Zellzahlen im Gate1 wurden auf 50000 Zellen vermindert.

#### 4.3.6 Auswertung der durchflusszytometrischen Analyse

##### Auswertung der EPC-Analyse

Die Auswertung des Datensatzes wurde in einer voreingestellten Datei im CellQuest Pro Programm nach Beendigung des Messvorgangs vollzogen. Hierzu musste der gemessene Datensatz in der voreingestellten Datei geöffnet werden.

Die Messungen der Negativkontrolle wurden in einer FSC-SSC-Punktwolkendarstellung (Dot-Plot) aufgezeigt. Um die Lymphozyten lag voreingestellt die Region R1 (durch vorherige Einstellungen gleichgesetzt mit dem Gate1), in der die 250000 Ereignisse registriert worden waren. Aufgrund von individuellen Unterschieden der Lymphozyten musste R1 bei jedem Probanden etwas nachkorrigiert werden, um die gesamte Lymphozytenpopulation zu erfassen (Abbildung 6).

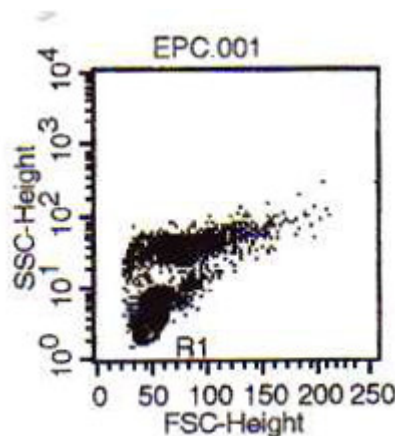


Abbildung 6: FSC-SSC-Dotplot - Punktwolkendarstellung der Leukozyten mit Erfassung der Lymphozyten in der Region R1.

Des Weiteren wurden aus den Messungen der Negativkontrolle 3 Histogramme erstellt, in denen die relative Fluoreszenzintensität (FL1, FL2 und FL4) auf der x-Achse und Menge der Ereignisse (Zellen) in der Region R1 auf der y-Achse zur Darstellung kamen. Durch die Einstellung des Markers M1 in jedem Histogramm konnte die sogenannte Hintergrundfluoreszenz der Zellen ausgeschaltet werden. Sie entstand durch die Eigenfluoreszenz aller lebenden Zellen in der untersuchten Zellsuspension. Da sich die Unterscheidung

zwischen Eigenfluoreszenz und Fluoreszenz der CD34+/CD133+/VEGFR2+ - Zellen als sehr schwierig darstellt, war es von großer Bedeutung die Hintergrundfluoreszenz auszuschalten und so die CD34+, CD133+ und VEGFR2+ - Zellen genau und zuverlässig ermitteln zu können.

Die Messungen sowohl der Isotypenkontrolle als auch der CD34+/CD133+/VEGFR2+ - Zellen bezogen sich ebenfalls immer auf die Region R1, wodurch es durch das einfache Übertragen des Markers1 in die Histogramme dieser Messungen möglich war, die Hintergrundfluoreszenz auszuschalten. Anschließend wurden durch entsprechendes Gaten die CD34+/CD133+/VEGFR2+ - Zellen ermittelt (Abbildung 7).

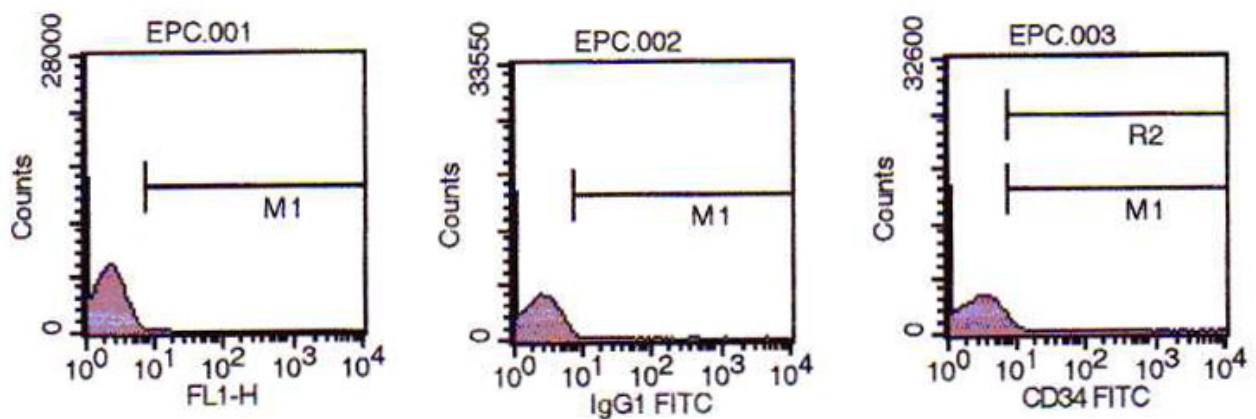


Abbildung 7: Ausschalten der Hintergrundfluoreszenz und entsprechendes Gaten am Beispiel der CD34+ - Zellen (Darstellung 1 zeigt im FL1-H-Histogramm die Einstellung des Markers 1 zur Ausschaltung der Hintergrundfluoreszenz; Darstellung 2 und 3 verdeutlichen das Übernehmen des Markers 1 in das IgG1-FITC-Histogramm beziehungsweise CD34-FITC-Histogramm sowie das Gaten der Region 2 (R2 = Gate für CD34+ - Zellen) entsprechend dem Marker 1, wodurch die CD34+ - Zellen ermittelt wurden).

## Auswertung der Apoptoseanalyse

Die Auswertung der Apoptosemessung erfolgte nahezu analog zur Auswertung der EPC. Zunächst wurde die Region R1 nachkorrigiert, auf die sich wiederum alle Messungen bezogen. Anschließend konnte durch die Markereinstellung die Hintergrundfluoreszenz beseitigt und durch entsprechendes Gaten die CD34+ - Zellen erfasst werden (Abbildung 8, Darstellung 1 und 2).

Die Darstellung der apoptotischen beziehungsweise nekrotischen Zellen erfolgte mittels einer Quadrantenanalyse. Diese wurde in Form eines Fadenkreuzes im Annexin-7-AAD-Dot-Plot eingerichtet. Es unterteilte den Dot-Plot in 4 Quadranten: einen unteren linken (lower left, LL), einen unteren rechten (lower right, LR), einen oberen linken (upper left, UL) und einen oberen rechten (upper right, UR) Quadranten (Abbildung 8, Darstellung 3 und 4).

Alle apoptotischen Zellen (Annexin V positiv, jedoch 7-AAD negativ) wurden im unteren rechten Quadranten registriert. Die nekrotischen Zellen, die sowohl Annexin V positiv als auch 7-AAD positiv waren, wurden im oberen rechten Quadranten registriert. Im unteren linken Quadranten erfolgte die Darstellung der Zellen, die keine Färbung aufzeigten und somit als lebende Zellen angesehen werden können.

Durch die entstandene Statistik (Abbildung 8, Darstellung 4) konnten die entsprechenden Prozentzahlen der apoptotischen Zellen gewonnen werden.

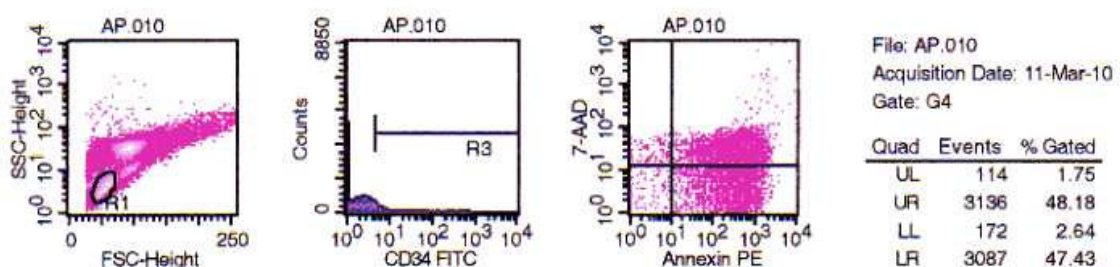


Abbildung 8: Auswertung der Apoptoseanalyse (Darstellung 1 zeigt die Analyseregion R1 im FSC-SSC-Dot-Plot; Darstellung 2 zeigt ein Histogramm, welches die CD34+ - Zellen durch entsprechendes Gaten erfasst; Darstellung 3 zeigt die Quadrantenanalyse der apoptotischen Zellen mit der entsprechenden Statistik in Darstellung 4).

#### 4.3.7 Berechnung der Anzahl im peripheren Blut zirkulierender Zellen

Bei der Auswertung der durchflusszytometrischen Untersuchung der endothelialen Progenitorzellen konnten nur Relativwerte bestimmt werden, da die ermittelten Zellzahlen von der Gesamtzahl aller detektierten Zellen in der Region R1 abhängig waren und R1 individuell vom Benutzer festgelegt wurde. Diese relativen Zellzahlen sind jedoch nicht für einen Vergleich der Probanden



untereinander geeignet, sodass die absoluten Zellzahlen der im peripheren Blut zirkulierenden CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>/VEGFR2<sup>+</sup> - Zellen pro Milliliter errechnet werden mussten.

Dazu wurden folgende Parameter benötigt:

- CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>/VEGFR2<sup>+</sup> - Zellen der EPC-Analyse
- Gesamtzahl aller detektierten Zellen in R1 (Lymphozyten) der EPC Analyse
- Anzahl der Lymphozyten in Gpt/l aus dem Differentialblutbild

Mit Hilfe der **Formel 1** konnten die absoluten Zellzahlen der CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>/VEGFR2<sup>+</sup> - Zellen pro Milliliter Blut mathematisch errechnet werden.

*Anzahl der CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>/VEGFR2<sup>+</sup> - Zellen/ml Blut =*

$$\left( \frac{\text{Anzahl der detektierten CD34}^+/\text{CD133}^+/\text{VEGFR2}^+ \text{ - Zellen im Gate}}{\text{Gesamtzahl aller detektierten Lymphozyten in R1}} \right) \times \text{Lymphozytenzahl/Liter Blut} \times 10^6$$

**Formel 1**

### **Berechnung der CD34<sup>+</sup> - Zellen an einem Beispiel:**

Der für die Berechnung benötigte Relativwert der CD34<sup>+</sup> - Zellen (21497 Zellen) sowie die Gesamtzahl aller detektierten Ereignisse im Analysefenster R1 (231528 Zellen) konnten nach korrekter Auswertung aus der Statistik entnommen werden.

Anschließend wurde die Anzahl der Lymphozyten im Differentialblutbild bestimmt (2,7 Gpt/l).

Anwendung der Formel 1:

$$\text{CD34}^+ \text{ - Zellen/ml Blut} = \frac{21497}{231528} \times 2,7 \times 10^6 / \text{ml}$$

250690 CD34<sup>+</sup> - Zellen zirkulieren in einem ml peripheren Blutes.

Die Berechnungen der Anzahl der zirkulierenden CD133+, VEGFR2+, CD34- und der dreifach positiven Progenitorzellen beziehungsweise der CD34+/CD133+, CD34+/VEGFR2+, CD133+/VEGFR2+ - Progenitorzellen erfolgte analog mit Hilfe der Formel 1.

#### **4.3.8 Bestimmung klinisch-chemischer Laborparameter**

Die Bestimmung der unter 4.1.1 genannten klinisch-chemischen Laborparameter erfolgte durch automatisierte und standardisierte Laborverfahren am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik des Universitätsklinikums Jena.

#### **4.3.9 Enzyme-linked Immunosorbend Assay (ELISA)**

Die Bestimmung der neuartigen Biomarker SDF-1alpha, Adiponectin, VEGF, ICAM und sE-Selectin erfolgte mittels eines quantitativen Sandwich-ELISA (R&D Systems) unter Berücksichtigung der Empfehlungen des Herstellers.

#### **4.3.10 Berechnung anthropometrischer Indizes**

##### **BMI**

Der Body Mass Index ist eine Verhältniszahl zur Beurteilung des Körpergewichtes und zur indirekten Abschätzung der Fettmasse. Er kann durch eine Berechnung oder anhand von Nomogrammen ermittelt werden (Bach 2007). In der vorliegenden Arbeit wurde der BMI mittels folgender **Formel 2** errechnet:

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht in kg}}{\text{Körpergröße in m}^2}$$

##### **Formel 2**

### **$\Delta$ BMI**

Um individuelle Veränderungen des BMI zur Studie von Jung et al. (2009) zu erfassen, wurde  $\Delta$  BMI für jeden Teilnehmer anhand von **Formel 3** ermittelt.

$$\Delta BMI = BMI_{2010} - BMI_{2006}$$

#### **Formel 3**

### **BMI<sub>2010</sub>/BMI<sub>2006</sub>-Ratio**

Zur Ermittlung von Gewichtsab- oder zunahme der einzelnen Teilnehmer wurden der aktuelle BMI von 2010 und der BMI von 2006 ins Verhältnis zueinander gesetzt:

$$BMI_{2010}/BMI_{2006} - Ratio = \frac{BMI_{2010}}{BMI_{2006}}$$

#### **Formel 4**

Ein Wert unter 1 verdeutlicht verglichen mit 2006 eine Gewichtsabnahme. Liegt der Wert über 1, ist eine Gewichtszunahme im Vergleich zu 2006 zu verzeichnen.

### **BMI SDS (Standard Deviation Score)**

Aufgrund von alters- und geschlechtsspezifischen Veränderungen der Fettmasse bei Kindern und Jugendlichen kann Übergewicht nicht mittels festen Grenzwerten definiert werden, wie es im Erwachsenenalter der Fall ist. Die Beurteilung sollte mit Hilfe von geschlechtsspezifischen Altersperzentilen für den BMI erfolgen (Kromeyer-Hauschild et al. 2001).

Nach der Ermittlung des individuellen BMI konnte der SDS durch die **Formel 5** berechnet werden, wobei  $M(t)$ ,  $L(t)$  und  $S(t)$  alterspezifische Parameter darstellen (entsprechend Tabellen aus Kromeyer-Hauschild et al. 2001):

$$SDS_{LMS} = \frac{\left[ \frac{BMI}{M(t)} \right]^{L(t)} - 1}{L(t) \times S(t)}$$

#### **Formel 5**

Durch die berechneten SDS-Werte ist es möglich, eine Einordnung eines individuellen Wertes in die Verteilung der Referenzgruppe vorzunehmen sowie die BMI-Werte der übergewichtigen Teilnehmer zu vergleichen beziehungsweise BMI-Veränderungen genauer zu verfolgen (Kromeyer-Hauschild et al. 2001).

#### **$\Delta$ BMI SDS**

Auch für den BMI-SDS wurde ein  $\Delta$  BMI-SDS berechnet, um mögliche individuelle Veränderungen zur Studie von Jung et al. (2009) zu ermitteln. Dazu wurde **Formel 6** verwendet:

$$\Delta BMI - SDS = (BMI - SDS_{2010}) - (BMI - SDS_{2006})$$

#### **Formel 6**

#### **BMI SDS<sub>2010</sub>-BMI SDS<sub>2006</sub>-Ratio**

Zur Ermittlung von Zunahme oder Abnahme des SDS der einzelnen Teilnehmer wurden der BMI-SDS von 2010 und 2006 ins Verhältnis zueinander gesetzt:

$$BMI\ SDS_{2010} - BMI\ SDS_{2006} - Ratio = \frac{BMI\ SDS_{2010}}{BMI\ SDS_{2006}}$$

#### **Formel 7**

### **Waist-to-Hip-Ratio**

Als Maß für das Fettverteilungsmuster wurde in vorliegender Arbeit der Hüftumfang auf Höhe der größten Breite bestimmt. Die Messungen erfolgten für alle Teilnehmer unter gleichen Voraussetzungen: morgens vor der ersten Mahlzeit, stehend und unbekleidet. Mit Hilfe der ermittelten Werte konnte die Waist-to-Hip-Ratio berechnet werden:

$$WHR = \frac{\text{Taillenumfang in cm}}{\text{Hüftumfang in cm}}$$

#### **Formel 8**

Das Ergebnis der WHR sollte bei Männern unter dem Wert 1 liegen. Ansonsten ist von einer vermehrten intestinalen Fettverteilung auszugehen, die mit dem Risiko des metabolischen Syndroms eng assoziiert ist (Goebel et al. 2006).

### **Δ Waist-to-Hip-Ratio**

Um die individuelle Entwicklung der Teilnehmer verfolgen zu können, wurde Δ WHR mittels folgender **Formel 9** errechnet:

$$\Delta WHR = WHR_{2010} - WHR_{2006}$$

#### **Formel 9**

### **Waist-to-Height-Ratio**

Mit der WHtR kann durch die Bestimmung des Verhältnisses zwischen Taillenumfang und Größe ebenfalls eine Aussage über die Verteilung des Körperfettes getroffen werden.

Der Taillenumfang wurde in der Mitte zwischen Rippenbogen und Beckenkamm ohne Einziehen des Bauches registriert. Anschließend konnte die WHtR mit der **Formel 10** berechnet werden.

$$WHtR = \frac{\text{Taillenumfang in cm}}{\text{Körpergröße in cm}}$$

**Formel 10**

### **Δ Waist-to-Height-Ratio**

Wie schon unter den vorherigen Punkten, wurde zur Ermittlung der individuellen Veränderungen der Teilnehmer zur Studie von Jung et al. (2009) für die WHtR ebenso ein  $\Delta$  WHtR berechnet:

$$\Delta WHtR = WHtR_{2010} - WHtR_{2006}$$

**Formel 11**

#### **4.4 Statistische Methoden**

Die Daten der durchflusszytometrischen Analyse wurden mittels der Software CellQuest™-Pro Version 4.0.2 der Firma BD Biosciences erfasst. Anschließend erfolgte die Speicherung dieser Daten im Statistikprogramm SPSS 19.0 für Windows von SPSS Inc. Weiterhin wurden die Informationen aus dem Fragebogen, ermittelte Labor- und Echokardiografieparameter sowie gemessene anthropometrische Maße diesem Statistikprogramm hinzugefügt. Die Probandendaten wurden stets anonymisiert.

Die Auswertung im SPSS erfolgte mit Hilfe verschiedener Analysegruppen. Als erstes wurde der Verlauf der Parameter von 2006 bis 2010 näher betrachtet. Es wurden sowohl für die Normalgewichtigen als auch für die Übergewichtigen Mittelwerte und Standardabweichungen für verschiedene Parameter aus den Jahren 2006 und 2010 ermittelt. Nach der Prüfung auf Normalverteilung durch den Kolmogorov-Smirnov-Test wurde zum Gruppenvergleich bei normalverteilten Merkmalen der gepaarte T-Test durchgeführt. Zeigten sich nicht normalverteilte Merkmale, erfolgte der Wilcoxon-Test. In einer weiteren Analyse wurden die aktuellen Parameter der normal- und übergewichtigen Jugendlichen miteinander verglichen. Bei normalverteilten Merkmalen wurde in diesem Fall der T-Test für unabhängige Stichproben inklusive des Levene-Tests der Varianzgleichheit verwendet, nicht normalverteilte Merkmale wurden mittels Mann-Whitney-U-Tests ausgewertet. Kategoriale Daten aus dem Fragebogen wurden durch den Chi-Quadrat-Test auf Abhängigkeit geprüft. Weiterhin wurde der Erfolg der Abnehmkur von 2006 eruiert. Die statistische Auswertung erfolgte dabei mittels bereits genannter Tests. Zusammenhanganalysen wurden durch Ermittlung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson durchgeführt. Bei einem Niveau von  $\alpha < 0,05$  konnte die Nullhypothese abgelehnt werden. Das Ergebnis wurde in diesem Fall als statistisch signifikant erachtet.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Charakteristika der Studienteilnehmer

Das Teilnehmerkollektiv vorliegender Studie bestand insgesamt aus 28 männlichen Jugendlichen im Alter von 16 bis 20 Jahren. Aufgrund ihres BMI gehörten 18 Teilnehmer zur Kontrollgruppe und 11 Teilnehmer zur Fallgruppe (siehe 4.1).

#### 5.1.1 Basischarakteristika der Studiengruppen

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in Alter, Gewicht, Body-Mass-Index, Taillen- und Hüftumfang sowie der Waist-to-Hip-Ratio und der Waist-to-Height-Ratio zwischen den beiden Gruppen. Ebenso unterschieden sich der systolische und diastolische Blutdruck zwischen den normalgewichtigen und übergewichtigen Jugendlichen signifikant. Kein statistisch bedeutsamer Unterschied wurde für Größe und Herzfrequenz ermittelt (Tabelle 10).

Tabelle 10: Basischarakteristika der Studienpopulation (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>NG</b></i>	<i><b>ÜG</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
n	18	11	
Alter, Jahre	19,17 $\pm$ 0,79	18,18 $\pm$ 1,33	<b>0,042</b>
Größe, cm	179,56 $\pm$ 8,2	184,45 $\pm$ 5,52	0,091
Gewicht, kg	70,49 $\pm$ 5,90	102,81 $\pm$ 15,75	<b>&lt; 0,001</b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	21,90 $\pm$ 1,81	30,12 $\pm$ 3,67	<b>&lt; 0,001</b>
Taillenumfang, cm	76,39 $\pm$ 3,33	99,18 $\pm$ 12,94	<b>&lt; 0,001</b>
Hüftumfang, cm	92,17 $\pm$ 3,49	111,45 $\pm$ 8,40	<b>&lt; 0,001</b>
Waist-to-Hip-Ratio	0,83 $\pm$ 0,03	0,89 $\pm$ 0,07	<b>0,019</b>
Waist-to-Height-Ratio	42,61 $\pm$ 2,46	53,73 $\pm$ 6,53	<b>&lt; 0,001</b>
Herzfrequenz in Ruhe, 1/min	70,0 $\pm$ 8,6	67,64 $\pm$ 5,50	0,423
RR systolisch in Ruhe, mmHg	124,44 $\pm$ 9,22	134,09 $\pm$ 11,79	<b>0,022</b>
RR diastolisch in Ruhe, mmHg	75,83 $\pm$ 5,49	80,45 $\pm$ 5,68	<b>0,047</b>



Ein statistisch bedeutsamer Zusammenhang konnte zwischen BMI und systolischem Blutdruck festgestellt werden ( $p=0,050$ ). Weiterhin korrelieren Hüftumfang ( $p<0,001$ ) sowie Taillenumfang ( $p=0,001$ ) signifikant mit dem C-reaktivem Protein.

### 5.1.2 Endotheliale Progenitorzellen

Die Anzahl der CD34- EPC war in beiden Gruppen höher als die Zellzahl der CD34+ EPC. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen konnte jedoch für keinen Zelltyp registriert werden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Anzahl der durchflusszytometrisch ermittelten EPC (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, Einheit in Zellen/ml)

<b>Zelltyp</b>	<b>NG</b>	<b>ÜG</b>	<b>p-Wert</b>
CD34+	300877,45 $\pm$ 217415,91	313392,22 $\pm$ 126986,28	0,323
CD133+	72313,57 $\pm$ 52695,1	59035,71 $\pm$ 39995,05	0,345
KDR+	624303,43 $\pm$ 271482,48	564033,0 $\pm$ 201526,23	0,531
CD34- EPC	15548,28 $\pm$ 10580,22	13661,23 $\pm$ 14722,12	0,208
CD34+ EPC	8772,9 $\pm$ 11857,32	4891,86 $\pm$ 4168,64	0,559
CD34+/CD133+	21411,90 $\pm$ 25371,95	14184,96 $\pm$ 8903,55	0,753
CD34+/KDR+	105903,08 $\pm$ 100299,05	89517,62 $\pm$ 48558,30	0,964
CD133+/KDR+	24321,17 $\pm$ 21415,43	18553,09 $\pm$ 18681,36	0,243

Die Zusammenhangsanalyse erbrachte keine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl der EPC und kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Bluthochdruck, Blutfettwerten, Rauchen oder körperlicher Aktivität. Ebenso konnte kein Zusammenhang zwischen dem C-reaktivem Protein und der Menge der CD34 positiven ( $p=0,358$ ) und negativen ( $p=0,442$ ) EPC nachgewiesen werden.

### 5.1.3 Apoptose

Die Apoptosedetektion erbrachte im Vergleich der beiden Gruppen keinen Unterschied in der Anzahl AnnexinV-/7-AAD- Zellen und AnnexinV+/7-AAD- Zellen. Hingegen erwies sich der Anteil der AnnexinV+/7-AAD+ Zellen in der

Gruppe der normalgewichtigen Jugendlichen im Vergleich zu den Übergewichtigen als signifikant höher (Tabelle 12).

Tabelle 12: Apoptosedetektion (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Zelltyp</b>	<b>NG</b>	<b>ÜG</b>	<b>p-Wert</b>
AnnexinV-/7AAD-	4,51 $\pm$ 3,83	5,49 $\pm$ 4,25	0,407
AnnexinV+/7AAD-	41,49 $\pm$ 5,32	45,91 $\pm$ 10,81	0,165
AnnexinV+/7AAD+	51,35 $\pm$ 7,13	45,26 $\pm$ 6,27	<b>0,034</b>

#### 5.1.4 Kardiovaskuläre Risikoparameter

Bei den Blutfettwerten konnte im Vergleich übergewichtiger und normalgewichtiger Jugendlicher lediglich ein signifikanter Unterschied für die Triglyceride und die LDL/HDL-Ratio konstatiert werden (Tabelle 13). Das Lipoprotein (a) rangierte sowohl bei den Normalgewichtigen als auch bei den Übergewichtigen im Normbereich unter 300mg/l. Die übrigen Parameter konnten jeweils für beide Gruppen im wünschenswerten Bereich detektiert werden (laut National Expert Panel on Detection: Cholesterin < 5,2 mmol/l, HDL 1,03-1,55 mmol/l, LDL 2,59-3,35 mmol/l, Triglyceride < 1,7 mmol/l).

Tabelle 13: Blutfettwerte im Vergleich (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>NG</b>	<b>ÜG</b>	<b>p-Wert</b>
Cholesterin, mmol/l	4,03 $\pm$ 0,63	4,60 $\pm$ 1,14	0,089
HDL, mmol/l	1,33 $\pm$ 0,18	1,19 $\pm$ 0,22	0,060
LDL, mmol/l	2,33 $\pm$ 0,60	2,85 $\pm$ 0,98	0,085
Triglyceride, mmol/l	0,78 $\pm$ 0,27	1,47 $\pm$ 0,56	<b>0,001</b>
LDL/HDL-Ratio	1,73 $\pm$ 0,45	2,55 $\pm$ 1,16	<b>0,045</b>
LP(a), mg/l	99,83 $\pm$ 142,99	134,82 $\pm$ 100,20	0,150

Der HbA1c erbrachte in beiden Gruppen eine nicht diabetische Stoffwechsellaage (4,5% - 6,1%). Die Mittelwerte unterschieden sich nicht

signifikant. Für das Kreatinin ließ sich kein statistischer Unterschied nachweisen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Ausgewählte klinisch-chemische Parameter im Vergleich (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>NG</b>	<b>ÜG</b>	<b>p-Wert</b>
HbA1c, %	5,38 $\pm$ 0,18	5,37 $\pm$ 0,22	0,818
Kreatinin, umol/l	79,06 $\pm$ 10,84	72,91 $\pm$ 8,80	0,125

### 5.1.5 Biomarker

Die übergewichtigen Teilnehmer wiesen ein signifikant höheres C-reaktives Protein auf als die Teilnehmer der Kontrollgruppe. In der Zusammenhangsanalyse konnte zudem eine signifikante Korrelation zwischen CrP und dem BMI registriert werden ( $p < 0,001$ ). Weiterhin untersuchte Biomarker erbrachten keinen statistisch bedeutsamen Unterschied (Tabelle 15).

Tabelle 15: Vergleich moderner Biomarker (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>NG</b>	<b>ÜG</b>	<b>p-Wert</b>
CrP, mg/l	0,61 $\pm$ 0,40	1,33 $\pm$ 0,72	<b>0,020</b>
VEGF, pg/ml	1100,94 $\pm$ 3019,29	437,64 $\pm$ 1011,27	0,237
VEGF2, pg/ml	15,08 $\pm$ 17,43	19,55 $\pm$ 21,66	0,551
SDF-1alpha, pg/ml	2861,35 $\pm$ 529,23	2828,40 $\pm$ 508,65	0,770
Adiponectin, ng/ml	6238,72 $\pm$ 3643,28	5192,35 $\pm$ 4031,99	0,477
sE-Selectin, ng/ml	26,34 $\pm$ 13,88	33,57 $\pm$ 15,63	0,138
ICAM, ng/ml	204,07 $\pm$ 26,65	227,73 $\pm$ 36,92	0,055
vWF, ng/ml	37,31 $\pm$ 7,28	40,62 $\pm$ 8,25	0,268

### 5.1.6 Echokardiografie

Echokardiografisch wurde für die übergewichtigen Jugendlichen ein signifikant größerer linksatrialer Durchmesser (LAD) gemessen ( $p=0,002$ ). Weiterhin zeigten sich in dieser Gruppe ein größerer Durchmesser des linksventrikulären Septums in der Diastole ( $p=0,020$ ) sowie ein größerer Durchmesser der linksventrikulären Hinterwand in der Systole ( $p=0,006$ ) im Vergleich zur Gruppe der normalgewichtigen Jugendlichen. Alle weiteren ermittelten Werte zeigten keinen signifikanten Unterschied (Tabelle 16).

Tabelle 16: Vergleich echokardiografisch ermittelter Parameter (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Ao - Durchmesser Aortenwurzel, LADs - Linksatrialer Durchmesser sys., IVSd - Durchmesser Interventrikularseptum dia., IVSs - Durchmesser Interventrikularseptum sys., LVPWd - Durchmesser Linksventrikuläre Hinterwand dia., LVPWs - Durchmesser Linksventrikuläre Hinterwand sys., LVDd - Linksventrikulärer Durchmesser dia., LVDs - Linksventrikulärer Durchmesser sys., FS - Fractional shortening, EF - Ejektionsfraktion)

<b>Merkmal</b>	<b>NG</b>	<b>ÜG</b>	<b>p-Wert</b>
Ao, mm	29,38 $\pm$ 2,55	30,0 $\pm$ 3,01	0,729
LADs, mm	32,75 $\pm$ 3,73	38,11 $\pm$ 3,79	<b>0,002</b>
IVSd, mm	9,09 $\pm$ 1,0	10,70 $\pm$ 1,70	<b>0,020</b>
IVSs, mm	12,13 $\pm$ 1,6	12,89 $\pm$ 0,93	0,208
LVPWd, mm	9,50 $\pm$ 1,23	10,13 $\pm$ 1,03	0,182
LVPWs, mm	13,73 $\pm$ 2,37	16,19 $\pm$ 1,47	<b>0,006</b>
LVDd, mm	47,47 $\pm$ 4,23	46,03 $\pm$ 12,82	0,435
LVDs, mm	29,88 $\pm$ 4,9	31,29 $\pm$ 3,89	0,465
FS, %	0,379 $\pm$ 0,061	0,377 $\pm$ 0,056	0,937
EF, %	67,5 $\pm$ 7,4	67,1 $\pm$ 7,0	0,905

### 5.1.7 Lebensstil und Familienanamnese

61,1% der übergewichtigen Jugendlichen besuchten zum Zeitpunkt der Datenerhebung ein Gymnasium, 38,9% befanden sich bereits in der Berufsausbildung beziehungsweise im Studium. In der Gruppe der Übergewichtigen besuchten 36,4% ein Gymnasium. Der gleiche Prozentsatz absolvierte eine Berufsausbildung oder ein berufsvorbereitendes Jahr. Die übrigen 27,3% waren Schüler von Real- und Hauptschulen. Ein Unterschied im

Notendurchschnitt ( $p=0,833$ ) oder der Wiederholung einer Klasse ( $p=0,762$ ) lag zwischen den Gruppen nicht vor.

Beide Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der Anzahl der Geschwister nicht ( $p=0,746$ ). Die elterlichen Merkmale Alter ( $p\text{-Wert}_{\text{Mutter}}=0,071$ ;  $p\text{-Wert}_{\text{Vater}}=0,109$ ), Größe ( $p\text{-Wert}_{\text{Mutter}}=0,637$ ;  $p\text{-Wert}_{\text{Vater}}=0,130$ ) und Gewicht ( $p\text{-Wert}_{\text{Mutter}}=0,182$ ;  $p\text{-Wert}_{\text{Vater}}=0,112$ ) zeigten ebenso keinen statistisch signifikanten Unterschied. 77,8% der Teilnehmer der Kontrollgruppe gaben an, dass die Eltern auf die Ernährung achten. In der Gruppe der Übergewichtigen behaupteten dies nur 63,6% ( $p=0,417$ ). Die Frage nach ähnlichen Essgewohnheiten der Eltern beantworteten die Jugendlichen in beiden Gruppen zu etwa 50% mit Ja. 61,1% der Normalgewichtigen essen gemeinsam mit den Eltern. Im Gegensatz dazu verbringen nur 45,5% der Übergewichtigen ihre Mahlzeiten mit den Eltern ( $p=0,688$ ). Der Süßigkeitenkonsum unterschied sich nicht signifikant. Während in der Kontrollgruppe 27,8% angaben täglich Süßigkeiten zu konsumieren, waren es in der Gruppe der Übergewichtigen 45,5% ( $p=0,867$ ). Der Obstkonsum erbrachte ebenfalls keinen Unterschied ( $p=0,747$ ).

In beiden Gruppen gaben 72% der Jugendlichen an, regelmäßig Sport zu treiben. Der Großteil der Normalgewichtigen (27,8%) betätigt sich dabei vier- bis sechsmal pro Woche, 16,7% treiben sogar täglich Sport. In der Fallgruppe hingegen sind 45,5% zwei- bis dreimal in der Woche sportlich aktiv und nur 9,1% treiben täglich Sport ( $p=0,510$ ). Die Dauer pro Sporteinheit unterschied sich nicht (Tabelle 17).

Tabelle 17: Dauer einer Sporteinheit (NG - Normalgewichtige, ÜG - Übergewichtige, p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen)

<b>Dauer einer Sporteinheit</b>	<b>NG (%)</b>	<b>ÜG (%)</b>	<b>p-Wert</b>
≤ 1 Stunde	5,6	27,3	0,468
1-2 Stunden	38,9	27,3	
≥ 2 Stunden	27,8	18,2	

100% der Normalgewichtigen und 90,9% der Übergewichtigen gaben an, einen PC im eigenen Zimmer zu besitzen. Im Mittel verbringen die Normalgewichtigen  $2,17 \pm 1,53$  Stunden täglich an diesem PC. Bei den Übergewichtigen sind  $3,96 \pm 3,47$  Stunden täglich zu verzeichnen ( $p=0,180$ ). Überdies besitzen 72,2% der Normalgewichtigen und 81,1% der Übergewichtigen ein Fernsehgerät im eigenen Zimmer, sodass zusätzlich Inaktivitätszeiten von  $1,28 \pm 1,0$  Stunden in der Kontrollgruppe und  $2,0 \pm 2,91$  Stunden in der Gruppe der Übergewichtigen entstehen ( $p=0,802$ ).

Im Rauchverhalten zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,197$ ). 45,5% der übergewichtigen Jugendlichen und 22,2% der normalgewichtigen Jugendlichen gaben dabei an, aktive Raucher zu sein. Im Mittel rauchten die Übergewichtigen 3,82 Zigaretten pro Tag, die Normalgewichtigen 2,61 Zigaretten ( $p=0,238$ ). Das Rauchverhalten der Eltern fiel für beide Gruppen analog aus.

Das Geburtsgewicht lag in der Kontrollgruppe im Mittel bei  $3174 \text{ g} \pm 498 \text{ g}$ . In der Gruppe der Übergewichtigen ordnete es sich bei  $3456 \text{ g} \pm 341 \text{ g}$  ein. Ein signifikanter Unterschied ( $p=0,119$ ) konnte nicht festgestellt werden.

In der Familienanamnese zeigten sich keine Unterschiede in der Häufigkeit ausgewählter Erkrankungen bei Angehörigen im Vergleich der beiden Gruppen. Folgende p-Werte konnten registriert werden: arterielle Hypertonie ( $p=0,149$ ), Diabetes mellitus Typ 2 ( $p=0,229$ ), verschiedene Herzerkrankungen ( $p=0,417$ ) und Nierenerkrankungen ( $p=0,426$ ). Fettstoffwechselstörungen und Hyperurikämie erbrachten in den beiden Gruppen keinen Unterschied in der Häufigkeit (Abbildung 9). Die Anzahl Angehöriger, die eines plötzlichen Herztods verstarben, unterschied sich ebenso nicht signifikant ( $p=0,862$ ).

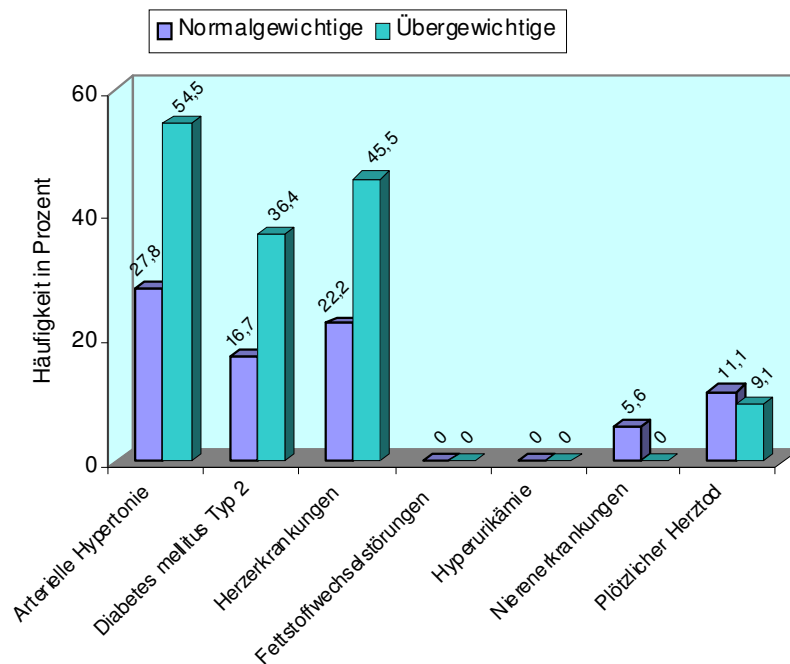


Abbildung 9: Häufigkeit ausgewählter Erkrankungen in der Familienanamnese der normal- und übergewichtigen Jugendlichen

## 5.2 Entwicklung der Werte im Verlauf

Um einen Überblick über die Entwicklung verschiedener Parameter im Verlauf der drei bis vier Jahre zu erhalten, wurden die erhobenen Daten von 2006/2007 mit den aktuell ermittelten Daten verglichen.

### 5.2.1 Ergebnisse in der Gruppe der normalgewichtigen Jugendlichen

Aus dem damaligen Kontrollkollektiv beteiligten sich in der vorliegenden Arbeit 20 Probanden. Die nun vier Jahre älteren Jugendlichen zeigten aktuell signifikant höhere Ergebnisse für die Merkmale Größe, Gewicht, BMI, Taillen- und Hüftumfang und die Waist-to-Height-Ratio. Signifikant niedrigere Ergebnisse wurden 2010 für die Waist-to-Hip-Ratio und die Herzfrequenz ermittelt. Der Blutdruck erreichte aktuell sowohl systolisch als auch diastolisch keinen statistisch signifikanten Unterschied (Tabelle 18).

Tabelle 18: Basischarakteristika der Normalgewichtigen im Vergleich 2006 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>Ergebnisse 2006</b>	<b>Ergebnisse 2010</b>	<b>p-Wert</b>
n	20	20	
Alter, Jahre	15,40 $\pm$ 0,68	19,20 $\pm$ 0,7	<b>&lt; 0,001</b>
Größe, cm	176 $\pm$ 0,82	180 $\pm$ 0,08	<b>&lt; 0,001</b>
Gewicht, kg	62,38 $\pm$ 8,5	73,14 $\pm$ 8,54	<b>&lt; 0,001</b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	20,11 $\pm$ 1,86	22,53 $\pm$ 2,42	<b>&lt; 0,001</b>
BMI-SDS	-0,8 $\pm$ 0,69	0,23 $\pm$ 0,79	<b>0,007</b>
Taillenumfang, cm	71,7 $\pm$ 4,92	77,85 $\pm$ 4,86	<b>&lt; 0,001</b>
Hüftumfang, cm	81,25 $\pm$ 5,04	94,15 $\pm$ 5,99	<b>&lt; 0,001</b>
Waist-to-Hip-Ratio	0,88 $\pm$ 0,04	0,83 $\pm$ 0,03	<b>&lt; 0,001</b>
Waist-to-Height-Ratio	40,8 $\pm$ 2,44	43,24 $\pm$ 2,92	<b>&lt; 0,001</b>
Herzfrequenz in Ruhe, 1/min	79,6 $\pm$ 14,5	68,4 $\pm$ 8,2	<b>0,004</b>
RR systolisch in Ruhe, mmHg	122,86 $\pm$ 7,56	130 $\pm$ 13,84	0,290
RR diastolisch in Ruhe, mmHg	71,43 $\pm$ 9,0	77,25 $\pm$ 5,73	0,068

Die Blutfettwerte entwickelten sich insgesamt positiv. Sämtliche Ergebnisse lagen im wünschenswerten Bereich. Die LDL/HDL-Ratio sank im Mittel um 0,25. Es konnten allerdings keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden (Tabelle 19).

Tabelle 19: Blutfettwerte der Normalgewichtigen im Vergleich 2006 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>Ergebnisse 2006</b>	<b>Ergebnisse 2010</b>	<b>p-Wert</b>
Cholesterin, mmol/l	4,08 $\pm$ 0,92	4,16 $\pm$ 0,86	0,247
HDL, mmol/l	1,29 $\pm$ 0,27	1,34 $\pm$ 0,19	0,304
LDL, mmol/l	2,50 $\pm$ 0,97	2,44 $\pm$ 0,97	0,617
Triglyceride, mmol/l	1,09 $\pm$ 0,74	0,91 $\pm$ 0,47	0,455
LDL/HDL-Ratio	2,09 $\pm$ 1,08	1,84 $\pm$ 0,74	0,126
LP(a), mg/l	98,45 $\pm$ 100,93	99,05 $\pm$ 137,42	0,341

Der HbA1c ordnete sich damals wie heute im Bereich der nicht diabetischen Stoffwechsellaage ein, zeigte jedoch einen signifikanten Anstieg im Vergleich



zum Jahr 2006. Für das Kreatinin wurde kein statistisch bedeutsamer Unterschied nachgewiesen (Tabelle 20).

Tabelle 20: Ausgewählte klinisch-chemische Parameter der Normalgewichtigen im Vergleich 2006 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>Ergebnisse 2006</b>	<b>Ergebnisse 2010</b>	<b>p-Wert</b>
HbA1c, %	5,09 $\pm$ 0,21	5,37 $\pm$ 0,19	<b>&lt; 0,001</b>
Kreatinin, umol/l	83,90 $\pm$ 9,51	79,70 $\pm$ 9,52	0,079

Im Mittel lag das CrP 2010 signifikant höher als 2006. Für Adiponectin hingegen konnten aktuell signifikant niedrigere Werte ermittelt werden. Die übrigen neuartigen Biomarker unterschieden sich im Vergleich zum Jahr 2006 nicht (Tabelle 21).

Tabelle 21: Moderne Biomarker der Normalgewichtigen im Vergleich 2006 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>Ergebnisse 2006</b>	<b>Ergebnisse 2010</b>	<b>p-Wert</b>
CrP, mg/l	0,34 $\pm$ 0,65	0,71 $\pm$ 0,48	<b>0,017</b>
SDF-1alpha, pg/ml	2786,87 $\pm$ 330,35	2758,84 $\pm$ 546,05	0,814
VEGF, pg/ml	104,40 $\pm$ 49,78	1421,49 $\pm$ 3206,51	0,120
Adiponectin, ng/ml	9689,48 $\pm$ 4124,16	5657,84 $\pm$ 4124,16	<b>&lt; 0,001</b>
sE-Selectin, ng/ml	28,10 $\pm$ 14,84	26,91 $\pm$ 13,04	0,836

### 5.2.2 Ergebnisse in der Gruppe der übergewichtigen Jugendlichen

Es konnten für die vorliegende Follow-Up-Studie neun übergewichtige Jugendliche aus der vorausgegangenen Gruppe der Übergewichtigen mobilisiert werden. Mittlerweile waren diese im Durchschnitt 3,22 Jahre älter. Die Körpergröße erwies sich als signifikant größer im Vergleich zu 2007. Alle weiteren ermittelten anthropometrischen Indizes, wie Körpergewicht, BMI, Taillen- und Hüftumfänge sowie die Waist-to-Hip-Ratio und die Waist-to-Height-Ratio unterschieden sich nicht im Vergleich zu 2007. Ebenso wenig

zeigte sich ein signifikanter Unterschied für den ermittelten systolischen sowie diastolischen Blutdruck im Vergleich zum Jahr 2007 (Tabelle 22).

Tabelle 22: Basischarakteristika der Übergewichtigen im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
n	9	9	
Alter, Jahre	14,67 $\pm$ 1,32	17,89 $\pm$ 1,36	<b>&lt; 0,001</b>
Größe, cm	174,63 $\pm$ 8,22	184,00 $\pm$ 7,16	<b>0,003</b>
Gewicht, kg	93,76 $\pm$ 12,73	104,10 $\pm$ 18,94	0,137
BMI, kg/m <sup>2</sup>	30,65 $\pm$ 2,86	30,55 $\pm$ 4,19	0,953
BMI-SDS	2,27 $\pm$ 0,35	2,06 $\pm$ 0,74	0,455
Taillenumfang, cm	97,33 $\pm$ 9,89	101,00 $\pm$ 14,29	0,470
Hüftumfang, cm	106,75 $\pm$ 8,38	110,88 $\pm$ 11,47	0,386
Waist-to-Hip-Ratio	0,90 $\pm$ 0,06	0,89 $\pm$ 0,06	0,865
Waist-to-Height-Ratio	55,79 $\pm$ 5,80	54,81 $\pm$ 6,90	0,711
Herzfrequenz in Ruhe, 1/min	75,78 $\pm$ 10,05	70,67 $\pm$ 6,00	0,101
RR systolisch in Ruhe, mmHg	132,89 $\pm$ 13,77	132,78 $\pm$ 10,93	0,986
RR diastolisch in Ruhe, mmHg	71,67 $\pm$ 8,57	78,33 $\pm$ 6,61	0,126

Bei den Blutfettwerten konnte eine negative Entwicklung der Triglyceride ermittelt werden. Im Vergleich zu 2007 wurden signifikant höhere Werte registriert (Tabelle 23). Die weiteren Blutfettwerte unterschieden sich nicht.

Tabelle 23: Blutfettwerte der Übergewichtigen im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
Cholesterin, mmol/l	4,02 $\pm$ 0,80	4,43 $\pm$ 1,02	0,059
HDL, mmol/l	1,07 $\pm$ 0,31	1,15 $\pm$ 0,19	0,301
LDL, mmol/l	2,62 $\pm$ 0,85	2,72 $\pm$ 0,93	0,589
Triglyceride, mmol/l	0,80 $\pm$ 0,33	1,34 $\pm$ 0,59	<b>0,049</b>
LDL/HDL-Ratio	2,70 $\pm$ 1,61	2,49 $\pm$ 1,10	0,529
LP(a), mg/l	183,00 $\pm$ 142,51	138,00 $\pm$ 108,19	0,312

Der HbA1c rangierte sowohl im Jahr 2007 als auch im Jahr 2010 im Normbereich und unterschied sich nicht signifikant. Für das Kreatinin wurden nahezu identische Werte zu beiden Zeitpunkten bestimmt (Tabelle 24).

Tabelle 24: Ausgewählte klinisch-chemische Parameter der Übergewichtigen im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
HbA1c, %	5,24 $\pm$ 0,11	5,36 $\pm$ 0,19	0,072
Kreatinin, umol/l	69,13 $\pm$ 11,09	69,13 $\pm$ 9,76	1,000

Für den Parameter SDF-1alpha konnten im Verlauf höhere Ergebnisse registriert werden, die sich statistisch signifikant zur Voruntersuchung unterschieden. CrP, VEGF, Adiponectin und sE-Selectin zeigten keinen Unterschied zwischen den Jahren 2007 und 2010 (Tabelle 25).

Tabelle 25: Moderne Biomarker der Übergewichtigen im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
CrP, mg/l	1,47 $\pm$ 1,53	2,87 $\pm$ 4,53	0,139
SDF-1alpha, pg/ml	1896,58 $\pm$ 537,63	3071,63 $\pm$ 505,98	<b>0,001</b>
VEGF	167,93 $\pm$ 112,59	116,61 $\pm$ 74,24	0,421
Adiponectin, ng/ml	8089,90 $\pm$ 4175,65	6414,80 $\pm$ 5195,84	0,441
sE-Selectin, ng/ml	36,56 $\pm$ 21,07	33,91 $\pm$ 17,82	0,536

### 5.3 Evaluation des Abnehmprogramms

Sieben übergewichtige Jugendliche, die aktuell an der Studie teilnahmen, befanden sich 2007 in einem stationären Abnehmprogramm. Weitere fünf Übergewichtige, die sich 2010 nicht an der Studie beteiligten, gaben telefonisch über den Erfolg des Abnehmprogramms Auskunft.

Im Mittel dauerte der stationäre Aufenthalt der 12 Jugendlichen 5,8 Wochen. In dieser Zeit konnte ein Gewichtsverlust von 10,96  $\pm$  2,77 kg erzielt werden.

66,7% gaben an, nach der Entlassung die bewusste Ernährung fortgeführt zu haben. Die Zeitspanne der Ernährungsfortführung reichte dabei von null Monaten bis 36 Monate und lag im Mittel bei 8,92 Monaten. Ähnlich verhielt es sich bei der Fortführung des Sports. Hier gaben 58,3% der übergewichtigen Jugendlichen an, weiterhin regelmäßig Sport getrieben zu haben. Die mittlere Zeitspanne der Sportfortführung rangierte bei 19,0 Monaten, allerdings ebenfalls bei großer Streubreite von null bis 36 Monaten. Ein signifikanter Zusammenhang konnte sowohl zwischen der Dauer des stationären Aufenthaltes und der Gewichtsabnahme ( $r_s = 0,703$ ,  $p = 0,011$ ) als auch zwischen der Dauer des stationären Aufenthaltes und der Fortführungsdauer der Ernährungsumstellung ( $r_s = 0,693$ ,  $p = 0,012$ ) festgestellt werden.

In den Monaten nach dem Abnehmprogramm bis hin zum Zeitpunkt der Datenerhebung im Jahr 2010 konnten nur 16,7% der Programmteilnehmer ihr reduziertes Gewicht halten oder weiter vermindern. Dagegen zeigten 83,3% eine Gewichtszunahme. In einem Vergleich der Mittelwerte von 2007 und 2010 konnte keine statistisch bedeutsame Änderung des BMI registriert werden. Der BMI-SDS, die Waist-to-Hip-Ratio und die Waist-to-Height-Ratio unterschieden sich ebenfalls nicht signifikant (Tabelle 26).

Tabelle 26: Basischarakteristika der Teilnehmer des Abnehmprogramms im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
Alter, Jahre	14,43 $\pm$ 1,4	17,57 $\pm$ 1,4	<b>&lt; 0,001</b>
Größe, cm	173,86 $\pm$ 6,0	182,43 $\pm$ 6,4	<b>0,013</b>
Gewicht, kg	94,09 $\pm$ 12,02	102,47 $\pm$ 19,68	0,335
BMI, kg/m <sup>2</sup>	31,08 $\pm$ 3,14	30,60 $\pm$ 4,67	0,820
BMI-SDS	2,32 $\pm$ 0,38	2,06 $\pm$ 0,83	0,470
Taillenumfang, cm	99,57 $\pm$ 8,6	102,14 $\pm$ 14,15	0,692
Hüftumfang, cm	108,83 $\pm$ 7,78	110,17 $\pm$ 12,73	0,820
Waist-to-Hip-Ratio	0,90 $\pm$ 0,06	0,91 $\pm$ 0,05	0,838
Waist-to-Height-Ratio	57,35 $\pm$ 5,57	55,89 $\pm$ 6,84	0,669

Weiterhin konnten aktuell signifikant höhere Cholesterinwerte ermittelt werden als noch vor 3 Jahren. Die Triglyceride, LDL und HDL sowie die LDL/HDL-Ratio zeigten keinen statistisch bedeutsamen Unterschied im Vergleich zu den Ergebnissen im Jahr 2007 (Tabelle 27).

Tabelle 27: Blutfettwerte der Teilnehmer des Abnehmprogramms im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
Cholesterin, mmol/l	4,00 $\pm$ 0,86	4,5 $\pm$ 1,08	<b>0,043</b>
HDL, mmol/l	1,0 $\pm$ 0,27	1,11 $\pm$ 0,15	0,257
LDL, mmol/l	2,65 $\pm$ 0,91	2,82 $\pm$ 0,96	0,365
Triglyceride, mmol/l	0,85 $\pm$ 0,31	1,41 $\pm$ 0,58	0,075
LDL/HDL-Ratio	2,86 $\pm$ 1,67	2,64 $\pm$ 1,09	0,584

Der neuartige Biomarker SDF-1alpha erbrachte 2010 signifikant höhere Ergebnisse im Vergleich zu 2007 (Tabelle 28).

Tabelle 28: Moderne Biomarker der Teilnehmer des Abnehmprogramms im Vergleich 2007 zu 2010 (p-Wert hervorgehend aus dem Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen, Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

<i><b>Merkmal</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2007</b></i>	<i><b>Ergebnisse 2010</b></i>	<i><b>p-Wert</b></i>
CrP, mg/l	1,79 $\pm$ 1,61	3,36 $\pm$ 5,11	0,301
SDF-1alpha, pg/ml	1690,0 $\pm$ 399,18	3122,05 $\pm$ 505,37	<b>&lt; 0,001</b>
VEGF	124,4 $\pm$ 56,24	130,09 $\pm$ 84,94	0,929
Adiponectin, ng/ml	6230,59 $\pm$ 2214,70	6712,81 $\pm$ 5953,81	0,862
sE-Selectin, ng/ml	35,16 $\pm$ 20,34	29,91 $\pm$ 12,21	0,319

Mittels BMI<sub>2010</sub>/BMI<sub>2006</sub>-Ratio konnte die Gewichtsentwicklung, ausgehend vom Körpergewicht während des Abnehmprogramms, beurteilt werden. Für drei der sieben Abnehmprogrammteilnehmer wurde eine weitere Gewichtszunahme ermittelt. Die übrigen vier Jugendlichen zeigten ein verringertes oder konstantes Gewicht. Beim Vergleich der Mittelwerte dieser zwei Gruppen zeigte sich, dass die Teilnehmer mit verringertem Gewicht bereits während des

Programms mehr abgenommen hatten. Anschließend führten sie die bewusste Ernährung sowie den Sport im Mittel für einen längeren Zeitraum fort. Es resultierte für diese Gruppe ein geringerer BMI von 5,16 kg/m<sup>2</sup>. Ferner zeigten sich Unterschiede bei den Blutfettwerten zwischen den beiden Gruppen (Tabelle 29). Der systolische Blutdruck rangierte bei den Teilnehmern mit Gewichtszunahme im Mittel um 9,58 mmHg höher als bei den Teilnehmern mit Gewichtsreduktion. Die Inaktivitätszeiten, im Sinne von Fernsehen und Computerspielen, erwiesen sich für die Teilnehmer, deren BMI<sub>2010</sub>/BMI<sub>2006</sub>-Ratio größer als 1,05 war, als bedeutend höher.

Tabelle 29: Ausgewählte Parameter zum Vergleich von Abnehmprogramtteilnehmern mit Gewichtszunahme und Gewichtsabnahme (Darstellung als Mittelwert ± Standardabweichung)

<b>Merkmal</b>	<b>BMI<sub>2010</sub>/BMI<sub>2006</sub>-Ratio ≥ 1,05</b>	<b>BMI<sub>2010</sub>/BMI<sub>2006</sub>-Ratio &lt; 1,05</b>
n	3	4
Stationäre Gewichtsabnahme, kg	9,67 ± 1,53	11,25 ± 3,95
Fortführung Ernährung, Monate	8,67 ± 5,77	9,0 ± 18,0
Fortführung Sport, Monate	4,0 ± 6,93	27,0 ± 18,0
BMI, kg/m <sup>2</sup>	33,55 ± 3,70	28,39 ± 4,39
Cholesterin, mmol/l	5,19 ± 1,34	3,98 ± 0,55
HDL, mmol/l	1,09 ± 0,12	1,12 ± 0,19
LDL, mmol/l	3,46 ± 1,18	2,34 ± 0,41
Triglyceride, mmol/l	1,62 ± 0,69	1,26 ± 0,53
RR systolisch in Ruhe, mmHg	138,33 ± 5,78	128,75 ± 15,48
Stunden PC/Tag	5,17 ± 3,75	1,25 ± 0,65
Stunden TV/Tag	4,33 ± 5,39	1,50 ± 0,71

## **6 Diskussion**

### **6.1 EPC im Kindes- und Jugendalter**

#### **6.1.1 Veränderungen im Laufe des Lebens**

Endotheliale Progenitorzellen haben sich als Biomarker für die Risikoabschätzung kardiovaskulärer Erkrankungen etabliert. Mit zunehmendem Alter steigen vaskuläre Funktionsstörungen und somit das Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung. EPC verhindern über Reendothelialisierung und Neovaskularisation diese Funktionsstörungen. Folglich ist eine Verminderung der EPC im Alter mit einem erhöhten Risiko für Herz- und Kreislauferkrankungen assoziiert. Zahlreiche Untersuchungen zur Anzahl zirkulierender EPC in verschiedenen Altersgruppen zeigen eine Abnahme der Zellzahl mit steigendem Lebensalter (Hoetzer et al. 2007, Jie et al. 2009, Schmidt-Lucke et al. 2005, Thijssen et al. 2006, Vasa et al. 2001b). In einzelnen Studien können keine Unterschiede in der EPC-Anzahl zwischen jüngeren und älteren gesunden Erwachsenen festgestellt werden (Heiss et al. 2005, Shaffer et al. 2006). Es zeigen sich jedoch funktionelle Störungen der EPC in den Eigenschaften Proliferation, Migration und Überleben bei älteren Studienteilnehmern. Diese werden neben der Verminderung der EPC-Anzahl bei älteren Erwachsenen als mögliche Ursache für das Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen im Alter angesehen.

Die vorliegende Studie erfolgte mittels einer anderen Nachweismethode als vor vier Jahren, weshalb ein Vergleich der EPC-Zahlen der Jugendlichen im Verlauf bedauerlicherweise nicht möglich ist. Auch ein Vergleich mit Ergebnissen anderer Forschungsgruppen ließ sich dadurch nicht realisieren. Aussagen zu Veränderungen der EPC-Zahl im zeitlichen Verlauf sowie die Abhängigkeit von der Gewichtsmodulation der Jugendlichen sind somit nicht möglich.

### 6.1.2 EPC und Übergewicht

Es existieren wenige Studien, die den Zusammenhang zwischen endothelialer Progenitorzellen und Übergewicht beziehungsweise Adipositas untersuchen. Vor allem im Kindes- und Jugendalter besteht diesbezüglich Forschungsbedarf. MacEneaney et al. (2009) publizierten die erste Studie über adipositasassoziierte Beeinträchtigungen der EPC bei Erwachsenen, ohne die Anwesenheit weiterer Risikofaktoren der Atherosklerose. Bis dahin wurden ausschließlich Studien durchgeführt, die diesen Zusammenhang bei Personen mit Vorhandensein verschiedener kardiovaskulären Risikofaktoren eruierten (Fadini et al. 2006, Müller-Ehmsen et al. 2008). So konnten per se nur vage Aussagen zur Auswirkung der Fettleibigkeit auf die EPC-Zahl getroffen werden. MacEneaney et al. (2009) stellten fest, dass adipöse Erwachsene ( $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) etwa 50% weniger EPC besitzen als übergewichtige ( $\text{BMI} \geq 25$  und  $< 30 \text{ kg/m}^2$ ) oder normalgewichtige Erwachsene ( $\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ ). Ferner konnten keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der EPC zwischen der Gruppe der Übergewichtigen und der normalgewichtigen Teilnehmer nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse wurden in der hier vorliegenden Studie ermittelt. Sowohl für die CD34- EPC als auch die CD34+ EPC konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen dem normalgewichtigen und dem übergewichtigen Kollektiv registriert werden. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Jung et al. (2009). Die Daten der zugleich ersten Studie zur Anzahl endothelialer Progenitorzellen im Jugendalter zeigen dort, dass Übergewicht einen signifikanten Einfluss auf die Menge der CD34- EPC ausübt. Die übergewichtigen Jugendlichen besaßen mehr CD34- EPC als Normalgewichtige gleichen Alters. Diese Ergebnisse ließen vermuten, dass bei Fettleibigkeit frühzeitig EPC aus dem Knochenmarkpool mobilisiert werden und sich dieser dann im Laufe des Lebens erschöpft, wenn die Adipositas fortbesteht.

Die Hypothese eines erschöpfbaren EPC-Pools wird derzeit in Studien diskutiert. Es wird davon ausgegangen, dass bei übergewichtigen und adipösen Personen stets geringfügige systemische Entzündungsprozesse ablaufen (Berg und Scherer 2005). Dabei freigesetzte Zytokine führen



einerseits zu einer Aktivierung der EPC und andererseits zur Beeinträchtigung ihrer selbst (Grisar et al. 2011). Folglich erschöpft vermutlich der limitierte EPC-Pool bei fortbestehendem Übergewicht im Laufe des Lebens frühzeitig (Kissel et al. 2007). Ohne die suffizienten Reparaturmechanismen der endothelialen Progenitorzellen könnten anhaltende Schädigungen des Gefäßsystems beim Auftreten weiterer Risikofaktoren nur unzureichend verhindert werden. Das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen würde dann im Erwachsenenalter deutlich erhöht sein (Werner et al. 2005).

Bezugnehmend auf die Jugendlichen unserer Studie, scheint das Übergewicht keinen Einfluss auf die Anzahl der EPC zu haben. Hierzu sei jedoch kritisch anzumerken, dass die Ergebnisse möglicherweise durch unseren kleinen Stichprobenumfang (n=29) nur limitiert betrachtet werden können.

### **6.1.3 Weitere Einflussfaktoren der EPC**

Nicht nur das Körpergewicht nimmt Einfluss auf die Anzahl der endothelialen Progenitorzellen. Es existieren zahlreiche Studien, die weitere Einflussfaktoren auffanden. So berichten Pirro et al. (2007) und Umemura et al. (2008) über verminderte EPC-Zahlen bei Patienten mit arterieller Hypertonie. Fadini und Avogaro (2010) stellen reduzierte EPC-Zahlen bei an Diabetes mellitus Typ 2 erkrankten Erwachsenen fest. Vor allem bei lang bestehender diabetischer Erkrankung zeigt sich eine weitere Reduktion der endothelialen Progenitorzellen (Grisar et al. 2011). Weiterhin werden unter anderem Zusammenhänge zwischen der Anzahl der EPC und chronischen Nierenerkrankungen (Choi et al. 2004, Lorenzen et al. 2010), koronarer Herzkrankheit (Werner et al. 2005), pulmonaler Hypertonie (Diller et al. 2008, Toshner et al. 2009) und dem Zigarettenrauchen (Michaud et al. 2006, Kondo et al. 2004) beschrieben. In der vorliegenden Studie konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen der EPC-Zahl und kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Bluthochdruck, den Blutfettwerten, dem Rauchen und der körperlichen Aktivität ermittelt werden. Die Ergebnisse sind allerdings wiederum durch die kleine Stichprobe limitiert beurteilbar. Ferner wurden die gefundenen Zusammenhänge an einem Erwachsenenkollektiv erhoben, während unsere

Resultate auf Daten von Jugendlichen basieren. So ist es möglich, dass die Jugendlichen bestimmten Noxen, wie dem Rauchen, noch nicht lange genug ausgesetzt waren, um Veränderungen in der Anzahl der EPC registrieren zu können. Ähnlich verhält es sich mit den anderen Risikofaktoren. Da die Jugendlichen vergleichsweise gesünder waren als die Erwachsenen in den genannten Studien, existiert vermutlich noch kein großer Bedarf an endogenen Reparaturmechanismen, wie es bei den Erwachsenen der Fall war. Folglich wären geringere Auswirkungen auf die EPC-Zahlen bei den Jugendlichen gegenwärtig.

Neben den kardiovaskulären Risikofaktoren sind in der Literatur einige moderne Biomarker beschrieben, die Einfluss auf die endothelialen Progenitorzellen nehmen. Das C-reaktive-Protein, einer der besten Surrogatparameter systemischer Entzündungsprozesse, wird dabei kontrovers diskutiert. So berichtet beispielsweise Verma et al. (2004) über eine negative Beeinflussung der EPC-Zahl bei steigendem CRP-Plasmaspiegel, während Güven et al. (2006) oder George et al. (2004) eine positive Korrelation zwischen CRP und der EPC feststellen können. In der vorliegenden Studie zeigte sich keinen Zusammenhang zwischen dem CRP-Plasmaspiegel und der Menge der CD34 positiven oder negativen EPC. Es ließ sich jedoch ein signifikant höherer CRP-Plasmaspiegel in der Gruppe der Übergewichtigen im Vergleich zu den normalgewichtigen Jugendlichen nachweisen. Überdies bestand eine signifikante Korrelation zwischen C-reaktivem-Protein und BMI sowie Taillenumfang und Hüftumfang. Diese Resultate werden durch zahlreiche Studien anderer Gruppen bekräftigt (Park et al. 2005, Wee et al. 2008, Choi et al. 2013). Beispielsweise weisen Park et al. (2005) bei adipösen Erwachsenen ebenfalls höhere Plasmaspiegel für CRP sowie signifikante Korrelationen zwischen CRP und BMI, Taillenumfang, Hüftumfang und Waist-Hip-Ratio nach. Weiterhin wurde dieser Zusammenhang bei Kindern und Jugendlichen von verschiedenen Studiengruppen untersucht (Wärnberg et al. 2004, Wu et al. 2003, Ford et al. 2001, Visser et al. 2001). In allen Studien resultierte eine positive Korrelation zwischen Übergewicht/Adipositas und einem erhöhten CRP-Plasmaspiegel. Im Kontext dieser Resultate kann

vermutet werden, dass Übergewicht und Adipositas mit systemischen entzündlichen Prozessen einhergehen und dies eine Schlüsselrolle in der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen spielen könnte. Einen wichtigen Beitrag dazu liefern Venugopal et al. (2002) sowie Chen et al. (2012). Sie zeigen den direkten Einfluss des CRP auf die Endothelfunktion durch die verminderte Expression und Aktivität der endothelialen Stickstoff-Synthase (eNOS), einem Indikator der endothelialen Dysfunktion, unter Anwesenheit von CRP. Der direkte Einfluss des CRP auf die Entstehung beziehungsweise das Fortschreiten der Atherosklerose kann somit dargelegt werden.

Zusammenfassend liegt der Verdacht nahe, dass die übergewichtigen Jugendlichen unserer Studie durch ihr Körpergewicht bereits systemischen inflammatorischen Prozessen ausgesetzt sind und dadurch ein erhöhtes Risiko aufweisen, im Laufe ihres Lebens kardiovaskuläre Erkrankungen zu entwickeln. Bezugnehmend auf die EPC sind die inflammatorischen Prozesse möglicherweise noch nicht ausgeprägt oder langandauernd genug, um einen signifikanten Unterschied in der Anzahl der EPC zwischen den normal- und übergewichtigen Jugendlichen hervorzurufen.

Weiterhin zählen die neuartigen Biomarker SDF-1, Adiponektin, VEGF und sE-Selectin zu den Einflussfaktoren der EPC. Im Folgenden wird nun auf einzelne Biomarker näher eingegangen und ausgewählte Ergebnisse der Studie werden diskutiert.

SDF-1 realisiert seinen Einfluss auf die EPC über eine ischämieinduzierte Konzentrationserhöhung mit der Folge einer vermehrten Freisetzung und Aktivierung der EPC (Hiasa et al. 2004, Yamaguchi et al. 2003). In unserer Studie konnte kein signifikanter Unterschied für den SDF-1-Plasmaspiegel zwischen den normal- und übergewichtigen Teilnehmern gefunden werden. Die übergewichtigen Jugendlichen zeigten jedoch im Vergleich zu 2007 signifikant höhere SDF-1-Plasmaspiegel. Für das Kontrollkollektiv konnten im Verlauf keine Unterschiede beobachtet werden. Die Mobilisation der EPC wird über die Interaktion mittels CXCR4-Rezeptor gewährleistet, der auf der Oberfläche der EPC exprimiert wird (Petit et al. 2007, Yamaguchi et al. 2003). Steigt der SDF-

1-Plasmaspiegel unter hypoxämischen Bedingungen im Gewebe an, erfolgt die Rekrutierung der EPC über diesen SDF-1-CXCR4-Signalweg in ischämisches Gewebe (Hattori et al. 2001b). Im Kontext dieser Forschungsergebnisse geben unsere Resultate Grund zur Spekulation, dass aktuell vermehrt ischämische Vorgänge im Körper der übergewichtigen Jugendlichen ablaufen als noch vor drei Jahren. Folglich müssten aktuell höhere Zahlen der EPC gemessen werden als im Jahr 2007. Eine genaue Aussage dazu ist jedoch, wie bereits erwähnt, bedauerlicherweise nicht möglich. Weiterhin werden positive und negative Korrelationen zwischen der Höhe des SDF-1-Plasmaspiegels und der Anzahl der EPC beschrieben. Chang et al. (2009) berichten über einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Anzahl der KDR+/CD34+ EPC und der SDF-1-Plasmakonzentration. Im Gegensatz dazu weisen Jung et al. (2009) eine Reduktion der CD34- EPC bei steigender SDF-1-Serumkonzentration nach. In den hier vorliegenden Korrelationsanalysen konnte kein Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern registriert werden. Ein Vergleich der drei Studien ist allerdings nur eingeschränkt möglich. Chang et al. (2009) untersuchten die genannte Korrelation an erwachsenen Patienten mit akutem Myokardinfarkt, während in der Studiengruppe Jung et al. (2009) sowie in vorliegender Studie gesunde Jugendliche untersucht wurden. Weiterhin konnte das Ergebnis von Jung et al. (2009) nicht reproduziert werden, was höchstwahrscheinlich in den geringen Fallzahlen begründet liegt.

In der Literatur werden Faktoren beschrieben, die Einfluss auf die SDF-1-Eigenschaften nehmen. So wirken eine diabetische Stoffwechsellage und die Insulinresistenz über eine Beeinträchtigung der eNOS hemmend auf die SDF-1-Expression (Gallagher et al. 2007, Kränkel et al. 2005). Aufgrund dessen vermuteten Jung et al. (2009), dass die damals signifikant niedriger ermittelten SDF-1-Plasmaspiegel der übergewichtigen Jugendlichen auf deren vergleichsweise erhöhten Blutzuckerwerten beruhten. Die Resultate unserer HbA1c-Messungen ergaben hingegen nur geringfügige Unterschiede zwischen den normalgewichtigen und übergewichtigen Teilnehmern. Ferner konnten keine Unterschiede in der Höhe der SDF-1-Serumkonzentrationen zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden, sodass die Hypothese weiter zu

bekräftigen ist. Weiterführende Vergleiche mit ähnlichen Studien sind aufgrund der spärlichen Datenlage derzeit nicht möglich, sollten jedoch Gegenstand zukünftiger Forschungen sein.

Einen Gegenspieler inflammatorischer und atherogener Prozesse stellt der Biomarker Adiponektin dar. Er besitzt die Fähigkeiten postprandial freie Fettsäuren im Plasma zu senken sowie die Insulinsensitivität zu verbessern (Diamond et al. 2004). Interessanterweise zeigen zahlreiche Studien, dass übergewichtige oder adipöse Personen einen niedrigeren Adiponektinplasmaspiegel aufweisen als normalgewichtige, obwohl die Produktion und Sekretion durch Adipozyten verwirklicht wird (Lavoie et al. 2011). Das Alter scheint dabei ein unabhängiger Faktor zu sein, da sowohl für Erwachsene (Arita et al. 2012) als auch für Kinder (Diamond et al. 2004) analoge Resultate festgestellt werden. Unsere Ergebnisse zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Höhe des Adiponektinplasmaspiegels zwischen den übergewichtigen und normalgewichtigen Jugendlichen. Bei der Betrachtung der Werte im Verlauf der 4 Jahre konnte jedoch in der Gruppe der Normalgewichtigen eine signifikante Abnahme des Adiponektinplasmaspiegels im Vergleich zum Jahr 2006 ermittelt werden. Das Übergewichtigenkollektiv wies hingegen nur geringe Veränderungen der Adiponektinwerte im Verlauf auf. Wird nun der Gewichtsstatus dazu beurteilt, lassen die normalgewichtigen Jugendlichen eine signifikante Zunahme des BMI sowie des BMI-SDS erkennen, während in der Gruppe der Übergewichtigen BMI und BMI-SDS im Verlauf unverändert blieben. Die erhaltenen Resultate unterstützen somit die Hypothese, dass eine Zunahme des Körpergewichtes mit einer Abnahme des Adiponektinspiegels einhergeht.

Weiterhin berichten einige Studiengruppen über Zusammenhänge zwischen Adiponektin und verschiedenen Parametern, wie beispielsweise BMI (Matsubara et al. 2002, Shetty et al. 2004), CRP (George et al. 2006, Shetty et al. 2004) oder sE-Selectin (Krakoff et al. 2003, Kantartzis et al. 2006). Diese Korrelationen zeigten in vorliegender Arbeit ähnliche Tendenzen, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen. So zeichnete sich ein negativer

Zusammenhang zwischen Adiponectin und BMI, CRP und dem Marker für Endothelzellschäden sE-Selectin ab. Demnach scheint ein niedriger Adiponectinplasmaspiegel mit Übergewicht und den damit verbundenen endothelialen Dysregulationen, die zu kardiovaskulären Erkrankungen führen, einherzugehen.

## **6.2 Übergewicht als Risikofaktor**

Übergewicht bei Kindern und Jugendlichen wird in vielerlei Hinsicht als Risikofaktor angesehen. Als frühe Konsequenz führt es im Kindes- und Jugendalter vor allem zu einer erhöhten Morbiditätsrate (Wabitsch 2000). Sowohl psychosoziale als auch körperliche Beeinträchtigungen werden beschrieben (Dietz 1998, Wabitsch et al. 2000). Weitaus bedenklicher sind jedoch die langfristigen Konsequenzen. Langzeitstudien zeigen, dass übergewichtige Kinder und Jugendliche signifikant häufiger chronische Erkrankungen im Laufe ihres Lebens entwickeln sowie eine erhöhte Mortalitätsrate im Erwachsenenalter aufweisen (DiPietro et al. 1994, Juonala et al. 2011, Must et al. 1992, Tirosh et al. 2011). Insbesondere kardiovaskuläre Risikofaktoren, die mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko einhergehen, werden bei übergewichtigen Kindern und Jugendlichen gefunden. So können zahlreiche Studien signifikant höhere Plasmaspiegel für LDL, Gesamtcholesterin und die Triglyceride bei übergewichtigen und adipösen Kindern ermitteln (Freedman et al. 1999, Haas et al. 2014, Reinehr et al. 2005, Shirasawa et al. 2013). Der HDL-Plasmaspiegel zeigt sich bei diesen Personen hingegen erniedrigt. Die Ergebnisse unserer Studie erbrachten solch einen Zusammenhang zwischen Übergewicht und den Triglyceriden sowie der LDL/HDL-Ratio. Für das Gesamtcholesterin, HDL und LDL konnten ebenfalls oben genannte Tendenzen festgestellt werden. Diese unterschieden sich jedoch statistisch nicht signifikant, was erneut auf die geringen Fallzahlen unserer Studie im Vergleich zu oben genannten zurückgeführt werden könnte. Daten der Bogalusa Heart Study zeigen zudem, dass ein ungünstiges Serumlipidprofil im Kindes- und Jugendalter bis in das Erwachsenenalter

fortbesteht (Rizk und Yousef 2012, Webber et al. 1991) und eng mit der Entstehung von atherosklerotischen Läsionen assoziiert ist (Berensen et al. 1998, McGill et al. 1997, Newman et al. 1986). Folglich kann das Übergewicht bei den Jugendlichen unserer Studie als ein Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen im Erwachsenenalter gewertet werden.

Neben den Blutfettwerten wird auch zwischen Übergewicht und dem arteriellen Blutdruck ein enger Zusammenhang beschrieben. Zahlreiche Studien berichten über erhöhte Blutdruckwerte bei übergewichtigen Kindern und Jugendlichen im Vergleich zu normalgewichtigen gleichen Alters (Mazor-Aronovitch et al. 2014, McMurray et al. 1995, Schiel et al. 2006, Sorof und Daniels 2002). Dies stimmt mit den Ergebnissen unserer Studie überein. Für die übergewichtigen Jugendlichen konnte sowohl für den systolischen als auch für den diastolischen Blutdruck im Mittel ein signifikant höherer Wert ermittelt werden als im Kontrollkollektiv. So rangierte der systolische Blutdruck im Mittel in Ruhe in der Gruppe der Übergewichtigen um etwa 10 mmHg höher als bei den normalgewichtigen Jugendlichen, der diastolische Blutdruck zeigte eine Erhöhung um etwa 5 mmHg. Unsere Resultate werden durch die Metaanalyse von Friedemann et al. (2012) bekräftigt, die bei adipösen Kindern einen um 7,49 mmHg höheren systolischen Blutdruck und einen um 4,06 mmHg höheren diastolischen Blutdruck in Ruhe registrierten. Weiterhin stellen Sorof und Daniels (2002) fest, dass mit steigender BMI-Perzentile die Prävalenz der arteriellen Hypertonie zunimmt. Die Abhängigkeit des Bluthochdrucks vom Gewicht wird auch in unserer Korrelationsanalyse deutlich, die einen positiven Zusammenhang zwischen BMI und systolischem Blutdruck zeigt. Ähnliche Ergebnisse erzielen Rosaneli et al. (2014). Darüber hinaus existieren Forschungsergebnisse, die belegen, dass eine Gewichtsreduktion zu einem signifikant niedrigeren arteriellen Blutdruck führt (Reinehr und Andler 2004, Rocchini et al 1987, Sinaiko 1996). Eine manifeste arterielle Hypertonie im Kindes- und Jugendalter steigert hingegen das Risiko des Fortbestehens im Erwachsenenalter deutlich (Bao et al. 1995, Chen und Wang 2008). Zusammenfassend kann somit das Übergewicht auch als Risikofaktor für die arterielle Hypertonie angesehen werden. In Bezug auf die übergewichtigen

Jugendlichen vorliegender Studie kann vermutet werden, dass das Gewicht bereits einen Einfluss auf das Gefäßsystem genommen hat und dass für sie die Gefahr besteht, im Erwachsenenalter einen Bluthochdruck zu entwickeln.

Übergewicht stellt überdies einen Risikofaktor für die Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 dar. In mehreren Studien konnte ein Prävalenzanstieg für Diabetes mellitus Typ 2 bei Kindern und Jugendlichen registriert werden (Dabelea et al. 2014, Fagot-Campagna et al. 2000, Van Name und Santoro 2013). Als Ursache werden die steigenden Prävalenzzahlen für Übergewicht und Adipositas angesehen (Hardy et al. 2004). Der mittlere BMI liegt bei Kindern mit Diabetes mellitus Typ 2 in zahlreichen veröffentlichten Studien oberhalb der 95. altersspezifischen Perzentile (Ludwig und Ebbeling 2001). In unserer Studie war keiner der Teilnehmer an einem Diabetes mellitus Typ 2 erkrankt. Um jedoch eine Aussage zu Unterschieden in der Stoffwechsellage treffen zu können, untersuchten wir die Korrelation zwischen HbA1c und dem BMI. Es konnte kein Zusammenhang ermittelt werden. Die Höhe des HbA1c-Wertes zwischen den übergewichtigen und normalgewichtigen Jugendlichen unterschied sich ebenfalls nicht. Dies könnte erneut im kleinen Stichprobenumfang begründet sein und würde dann auch den folgenden Sachverhalt erklären. In einigen Studien wird ein positiver Zusammenhang zwischen HbA1c und BMI beschrieben (Koga et al. 2007, Nishimura et al. 2006). Bei unserer Betrachtung der HbA1c-Werte im Verlauf zeigte sich interessanterweise aktuell ein signifikant höherer HbA1c-Wert in der Gruppe der normalgewichtigen Jugendlichen. Es konnte weiterhin eine signifikante Zunahme des BMI in dieser Gruppe registriert werden. Dies lässt vermuten, dass mit Zunahme des BMI der HbA1c-Wert ansteigt. In der Gruppe der übergewichtigen Jugendlichen unterschied sich der HbA1c-Wert verglichen mit 2007 nicht signifikant. Bei diesen Teilnehmern konnte jedoch auch keine BMI-Zunahme im Verlauf verzeichnet werden. Alles in allem scheint eine positive Korrelation zwischen HbA1c und BMI zu existieren, die in unserer Untersuchung allerdings durch die geringe Teilnehmerzahl statistisch nicht bedeutsam wird.



Ein weiteres Risiko stellt das Übergewicht für frühe myokardiale Veränderungen dar. Kortelainen (1997) deklariert das Körpergewicht als bedeutenden Prädiktor für das Gewicht des Herzens sowie das Auftreten arteriosklerotischer Veränderungen der Koronarien. Ein hohes Gewicht des Herzens, insbesondere durch linksventrikuläre Hypertrophie, steigert wiederum das Risiko für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität (Levy et al. 1990). In der Bogalusa Heart Study werden für Kinder und Jugendliche sowohl die Körpergröße als auch das Körpergewicht als bedeutende Faktoren beschrieben, die die linksventrikuläre Herzmasse beeinflussen (Urbina et al. 1995). Alp et al. (2014) deklarieren den BMI sowie die totale Körperfettmasse als Prediktor für eine abnorme linksventrikuläre Geometrie.

Unsere Ergebnisse zeigten in der Gruppe der übergewichtigen Jugendlichen einen signifikant größeren linksatrialen Durchmesser im Vergleich zum Kontrollkollektiv. Einige Forschungsgruppen weisen ebenfalls eine Zunahme des LAD bei steigenden BMI nach (Kibar et al. 2012, Movahed und Saito 2008, Sasson et al. 1996). Es wird vermutet, dass der zunehmende Durchmesser des linken Vorhofs eine physiologische Anpassung an den adipösen Gewichtsstatus ist (Sasson et al. 1996). Weiterhin ermittelten wir für die Übergewichtigen ein signifikant dickeres Interventrikularseptum in der Diastole sowie einen signifikant größeren Durchmesser der linksventrikulären Hinterwand in der Systole im Vergleich zu den Normalgewichtigen. Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit den Resultaten von Alpsoy et al. (2013), Kinik et al. (2006) sowie Nakajima et al. (1985) und reflektieren erste strukturelle Veränderungen des Herzens im Sinne einer Linksherzhypertrophie. In der Strong Heart Study wird festgestellt, dass bei übergewichtigen Jugendlichen eine erhöhte linksventrikuläre Masse notwendig ist, um die vermehrte hämodynamische Last zu kompensieren. Bei adipösen Jugendlichen hingegen übersteigt die Zunahme der linksventrikulären Masse die zu kompensierende hämodynamische Last. In der Folge kommt es zur verminderten Leistung des linken Ventrikels. In diesem Falle werden neurohumorale Faktoren als ursächlich erachtet (Chinali et al. 2006).

Weitere Studien ermitteln die arterielle Hypertonie als einen determinierenden Faktor für die Entstehung einer erhöhten linksventrikulären Herzmasse (Hanevold et al. 2004, Maggio et al. 2008). Die übergewichtigen Teilnehmer unserer Studie waren zwar nicht an einer arteriellen Hypertonie erkrankt, wiesen jedoch signifikant höhere Blutdruckwerte auf als die normalgewichtigen Teilnehmer. Im Kontext der genannten Forschungsergebnisse könnte dies als weitere Ursache der kardialen Veränderungen gewertet werden.

Zusammenfassend scheint das Übergewicht der übergewichtigen Jugendlichen unserer Studie bereits strukturelle Veränderungen am Herzen im Sinne einer linksventrikulären Hypertrophie hervorgerufen zu haben. Folglich sollte in Zukunft eine frühzeitige Prävention beziehungsweise Behandlung initiiert werden, um ein Fortschreiten bestehender Schäden und somit die Entstehung einer chronischen Herzerkrankung zu verhindern.

### **6.3 Die entscheidende Rolle des Lebensstils in der Entstehung des Übergewichtes**

Die Entstehung des Übergewichtes unterliegt multiplen Faktoren. Eine besondere Rolle nimmt dabei der Lebensstil ein. Steigende Inaktivitätszeiten und ungünstige Ernährungsgewohnheiten charakterisieren den Lebensstil übergewichtiger Kinder und Jugendlicher (Graf 2010). Die Resultate unserer Studie lassen ebenfalls einen ungünstigeren Lebensstil der übergewichtigen Jugendlichen vermuten. So essen die Übergewichtigen tendentiell häufiger Süßigkeiten und treiben seltener Sport als die Normalgewichtigen. Ferner wies die Gruppe der übergewichtigen Jugendlichen zusätzlich deutlich höhere Inaktivitätszeiten durch Benutzung von PC und Fernseher auf als das Kontrollkollektiv. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Resultaten der KiGGS-Studie (Lampert et al. 2007). Unsere vorliegende Vermutung kann jedoch bei fehlender statistischer Signifikanz nicht belegt werden.

Das familiäre Umfeld nimmt in der Prägung des Lebensstils der Kinder und Jugendlichen eine zentrale Position ein. Die Energieaufnahme sowie die körperliche Aktivität können maßgeblich und auf verschiedenste Art und Weise

durch die Eltern beeinflusst werden (de Vries et al. 2008). So determinieren die Eltern Nahrungsangebot und Struktur. In vorliegender Studie bestätigten beide Gruppen mit einem Prozentsatz von jeweils 50% ein ähnliches Essverhalten wie ihre Eltern. Eine familiäre Prägung des Essverhaltens kann aus unseren Daten nicht abgeleitet werden. Die Tatsache, dass die normalgewichtigen Jugendlichen häufiger angaben, ihre Eltern seien achtsam mit der Ernährung, lässt jedoch diesen familiären Einfluss vermuten. Angemerkt sei allerdings auch hier die fehlende statistische Signifikanz, um diese Vermutung zu belegen.

Überdies werden Zusammenhänge zwischen dem Gewicht der Eltern und dem der Kinder beschrieben. Kinder übergewichtiger Eltern haben ein mehr als doppelt so hohes Risiko im Laufe des Lebens selbst übergewichtig zu werden als Kinder normalgewichtiger Eltern (Whitaker et al. 1997). Die erhobenen Daten vorliegender Studie zeigten tendentiell höhere elterliche Gewichte in der Gruppe der übergewichtigen Jugendlichen. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte jedoch nicht gefunden werden.

Einige Studiengruppen diskutieren zudem den Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und späterer Adipositasentstehung. Kinder mit einem hohen Geburtsgewicht (>90. Perzentile) haben demnach ein höheres Risiko als junge Erwachsene übergewichtig zu sein (Yu et al. 2011, Parsons et al. 1999, Seidman et al. 1991). Des Weiteren existieren Untersuchungen, die belegen dass ein Geburtsgewicht unterhalb der 10. Perzentile ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für Übergewicht beziehungsweise Adipositas im Jugend- und Erwachsenenalter einhergeht (Hill et al. 2013, Stroescu et al. 2013). In vorliegender Arbeit konnte kein Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und aktueller Körperkonstitution festgestellt werden.

Entgegen der Erwartungen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen in Bezug auf die körperliche Aktivität. Dabei ist kritisch anzumerken, dass die Datenerhebung mittels eines Fragebogens erfolgte und somit die Aussagekraft durch Antworten entsprechend der „sozialen Erwünschtheit“ limitiert sein könnte. Ferner wurde die Art des

ausgeübten Sports nicht berücksichtigt, was einen Vergleich der körperlichen Aktivität zwischen normal- und übergewichtigem Kollektiv zusätzlich einschränkt. Andere Autoren weisen hingegen deutliche Unterschiede in der körperlichen Leistungsfähigkeit, dem alltäglichen Bewegungsumfang und der Fitness zwischen normal- und übergewichtigen Kindern und Jugendlichen auf (De Bourdeaudhuij et al. 2005, Graf 2010, Walter et al. 2005). Demnach treiben übergewichtige Kinder und Jugendliche circa eine Stunde weniger Sport als normalgewichtige. Die körperliche Aktivität nimmt dabei Einfluss auf das Gefäßsystem. Studien belegen, dass regelmäßige körperliche Aktivität bei adipösen Kindern positive Effekte auf die Atherosklerose zeigt (Farpour-Lambert et al. 2009, Watts et al. 2004). Als ursächlich dafür werden einerseits eine verbesserte Endothelfunktion angesehen (Hambrecht et al 2003, Kelly et al. 2004, Watts et al. 2005), andererseits führt die sportliche Betätigung zu einer Erhöhung der zirkulierenden EPC, die durch ihre gefäßprotektiven Eigenschaften das Atheroskleroserisiko senken (Cesari et al. 2012, Laufs et al 2004, Laufs et al. 2005, Walther et al. 2008). Arnold et al. (2010) untersuchten diesen Zusammenhang bei adipösen Kindern und Jugendlichen und wiesen einen Anstieg der endothelialen Progenitorzellen bei besserer körperlicher Verfassung im Sinne von höherer Fitness nach. Walther et al. (2009) zeigen auf, dass bereits eine geringe Modulation der Trainingsfrequenz im Sinne von täglichem Schulsport ausreicht, um einen Anstieg der EPC zu erzielen. Weiterhin können Trainingsprogramme, die dreimalig am Nachmittag nach der Schule stattfinden, bei übergewichtigen und adipösen Jugendlichen einen signifikanten Anstieg der EPC-Zahlen sowie eine Abnahme der Intima-Media-Dicke der Carotis nach 12 Wochen Training bewirken (Park et al. 2012b). Zusammenfassend existieren demnach verschiedene effektive Interventionsmöglichkeiten, die unter anderem genutzt werden sollten, um die Endothelzellfunktionen der adipösen Kinder zu verbessern, bestehende Gefäßschäden zu reparieren und somit die kardiovaskuläre Gesundheit voranzutreiben.

Die beiden Gruppen in vorliegender Studie unterschieden sich in ihrer sportlichen Aktivität nicht. Ebenso ergaben sich keine signifikanten

Unterschiede in der Anzahl der EPC. Unter dem Aspekt, im Fragebogen reale Angaben der normal- und übergewichtigen Jugendlichen erhalten zu haben, stehen die Ergebnisse im Einklang mit den genannten Untersuchungen der internationalen Studien. Andererseits ist jedoch auch in diesem Fall die Stichprobengröße möglicherweise zu klein, um erwähnte Schlussfolgerungen treffen zu können.

#### **6.4 Abnehmprogramm ohne Langzeiterfolg**

Unsere erhobenen Daten zeigen, dass durch die therapeutischen Grundpfeiler Ernährungstherapie, Bewegungstherapie und Verhaltenstherapie während des Abnehmprogramms eine deutliche Gewichtsreduktion erzielt werden kann. Diese Kurzzeiterfolge werden durch verschiedene Studien bestätigt und scheinen vor allem bei Jungen deutlicher ausgeprägt zu sein (Hoffmeister et al. 2011, Reinehr und Wabitsch 2003, Siegrist et al. 2009, Wabitsch 2004).

Zum Zeitpunkt unserer Datenerhebung gaben über 80% der jugendlichen Programmteilnehmer an, nach dem stationären Aufenthalt erneut zugenommen zu haben. Dabei ist allerdings die signifikante Größenzunahme der Jugendlichen zu beachten. Der resultierende BMI ordnete sich letztendlich auf ähnlichem Niveau ein wie vor drei Jahren. Um eine Aussage zum Langzeiterfolg treffen zu können, ist ein Vergleich der BMI-Werte von damals und heute notwendig. Aufgrund der alters- und geschlechtsspezifischen Veränderungen der Fettmasse bei Kindern und Jugendlichen wird dabei empfohlen, den Vergleich der BMI-Werte anhand des BMI-SDS vorzunehmen. Dieser unterschied sich in vorliegender Studie nicht signifikant. Zusammenfassend konnte somit kein Langzeiterfolg in der Gewichtsreduktion durch die stationäre Therapie unserer jugendlichen Teilnehmer erzielt werden.

Aufgrund der geringen Fallzahlen sind unsere Untersuchungen mit einigen Limitationen zu betrachten. Die Aussagekraft zur Effektivität des Abnehmprogramms ist durch die geringe Teilnahmebereitschaft der Jugendlichen eingeschränkt. Trotz intensivster Bemühungen mittels Anschreiben, Telefonaten und diversen Anreizen, wie kostenlosem

Gesundheitscheck, Fahrtgelderstattung und MP3-Player, waren die Jugendlichen nicht zur Teilnahme zu motivieren. Die Gründe waren vielschichtig: Abiturvorbereitung, Auslandsaufenthalt, Erfüllung des Wehrdienstes, begonnene Ausbildung, gesundheitliche Probleme. Zudem konnten einige der Jugendlichen durch Wegzug weder auf dem Postweg noch telefonisch ausfindig gemacht werden. Alles in allem schien der Zeitpunkt der Datenerhebung in der Übergangszeit ins Erwachsenenalter ein ungünstiger zu sein.

In der Literatur existieren nur wenige Studien über Langzeiteffekte stationärer Therapieprogramme. Rank et al. (2012) beschrieben lediglich 14 Studien, die diese Effekte untersuchten. Hinsichtlich Studiendesign und Studienqualität waren diese sehr heterogen. So variierten die Untersuchungs- und Nachbeobachtungszeiträume stark. In keiner Studie wurden Follow-Up-Zeiträume von mehr als fünf Jahren überschritten (Kelly und Kirschenbaum 2011). Die Untersuchungen zeigen zudem widersprüchliche Ergebnisse. Einerseits werden nachhaltige Körpergewichtsabnahmen bei verhaltenstherapeutisch orientierten stationären Rehabilitationen beschrieben (Tiedjen et al. 2000, Rank et al. 2011), andererseits zeigt sich, dass eine Gewichtsreduktion langfristig nicht erhalten werden kann (Fonseca et al. 2014). Aufgrund der uneinheitlichen Studiendesigns ist jedoch die Vergleichbarkeit der Therapieprogramme stark eingeschränkt, sodass grundlegende Aussagen zu den Langzeiterfolgen kaum möglich sind. Zukünftig sollten standardisierte Protokolle für die Interventionen verwendet werden, um mittels Randomisierung einen Vergleich der Therapieprogramme durchführen zu können. Weiterhin besteht ein erheblicher Bedarf an Studien mit deutlich längeren Nachbeobachtungszeiträumen. Einen ersten Beitrag dazu liefern Rank et al. (2012), die Langzeiteffekte stationärer Therapieprogramme beginnend 2006 bei 1500 Kindern nach einem, zwei, fünf und zehn Jahren untersuchen.

Ferner sollten Überlegungen dahingehend geführt werden, in welchem Setting (ambulant/stationär/Mischformen) die Abnehmprogramme aufgebaut sein sollten. Siegfried et al. (2006) zeigen beispielsweise, dass mittels spezifischer

stationärer Langzeittherapie (im Mittel  $5,74 \pm 2,20$  Monate) deutliche und nachhaltige Gewichtsreduktionen bei Jugendlichen erreicht werden können. Interessanterweise waren auch in vorliegender Studie sowohl die Gewichtsabnahme als auch die Fortführungsdauer der Ernährungsumstellung umso größer, je länger der stationäre Aufenthalt dauerte. Dies zeigt möglicherweise die Langwierigkeit verhaltenstherapeutischer Maßnahmen wie Aufklärung, Edukation und Verbesserung der Selbstwirksamkeit, mit dem Ziel einer Lebensstilumstellung in der kognitiven Umsetzung. Sie führen zu der Überlegung, ob zukünftig die Aufenthaltszeiten verlängert werden sollten, um die Umstellung des Lebensstils zu festigen. So könnten vermutlich langfristige Erfolge erzielt werden.

Weiterhin kontrovers diskutiert wird das Thema, welcher Therapiezweig (ambulante beziehungsweise stationäre Behandlungsmaßnahme) zu einer höheren Erfolgsrate führt. Wie auch im stationären Bereich liegt bei den ambulanten Therapieprogrammen eine Vielzahl heterogen strukturierter Angebote vor. Lediglich vereinzelte Therapiemaßnahmen sind jedoch standardisiert evaluiert, sodass sich eine abschließende Bewertung schwierig gestaltet. Die wenigen Therapieprogramme, die evaluiert zur Verfügung stehen, zeigen Kurzzeiterfolgswerten (Intent-to-treat) von etwa 80% stationär und 65% im ambulanten Bereich mit einer Abbrecherquote von circa 20% (Reinehr und Wabitsch 2003). Ähnliche Ergebnisse erbringen internationale Studien (Epstein et al. 2001, Yanovski 2001, Zwiauer 2000). Kelly und Kirschenbaum (2011) vergleichen in einer Meta-Analyse anhand der durchschnittlichen Reduktion des Übergewichtes in Prozent stationäre und ambulante Therapieprogramme. Für stationär behandelte Kinder ergibt sich eine durchschnittliche Reduktion von 23,9% während des Aufenthaltes und von 20,6% im gesamten Beobachtungszeitraum einschließlich Follow-Up-Periode. Für ambulante Therapieprogramme können durchschnittliche Reduktionen des Übergewichtes von 8,5% beziehungsweise 8,9% ermittelt werden. In den Jahren 2004 und 2011 gab die Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung eine Studie zur Bewertung der aktuell in Deutschland angebotenen Adipositastherapieprogramme in Auftrag (EvAKuJ - Projekt: Evaluation der

Adipositas-Therapie bei Kindern und Jugendlichen). Die Ergebnisse zeigen, dass deutlich mehr Kinder und Jugendliche an ambulanten als an stationären Therapieangeboten teilnehmen (1041 versus 875). Die stationären Abnehmprogramme zeigen sich in der kurzfristigen BMI-SDS-Reduktion signifikant erfolgreicher als ambulante Behandlungsmaßnahmen (-0,36 versus -0,18,  $p < 0,001$ ). Langfristig können allerdings keine Unterschiede zwischen den beiden Therapiezeigen registriert werden. In der Intention-to-treat-Analyse werden aber deutlich höhere Erfolgsquoten für die ambulanten Therapieprogramme ermittelt (Hoffmeister et al. 2011). Zusammenfassend erbringt ein Vergleich der Therapiezeige mehrdeutige Ergebnisse, vor allem hinsichtlich der Langzeiterfolge von Abnehmprogrammen.

Bezugnehmend auf die übergewichtigen Jugendlichen unserer Studie konnten für den stationären Therapiezeig ebenfalls kurzzeitige Behandlungserfolge nachgewiesen werden. Langfristig stabilisierten sich diese aber nicht. Die Rückführung ins häusliche Umfeld, in dem die Eltern möglicherweise gering über einen gesunden Lebensstil geschult sind und die Jugendlichen vermutlich weniger an der Nahrungsmittelauswahl partizipieren, könnte ein Grund für den ausbleibenden Langzeiterfolg sein. Eine ungesunde Ernährung im häuslichen Rahmen unterstreichen vermutlich die aktuell signifikant höheren Cholesterinwerte der Jugendlichen im Vergleich zu den Werten von 2007 während des Abnehmprogrammes. Zudem belegen Studien, dass psychosoziale Merkmale der Familien, insbesondere der Mütter, eine wichtige Rolle für den langfristigen Erfolg der Gewichtsreduktion spielen (Favaro und Santonastaso 1995, Fröhlich et al. 2011). Eine Datenerhebung diesbezüglich erfolgte in vorliegender Arbeit nicht.

Um die Aufrechterhaltung des kurzfristigen stationären Therapieerfolgs zu optimieren, sollte über eine Vernetzung zwischen stationärer Behandlung und ambulanter Nachbetreuung nachgedacht werden. Dies bietet die Möglichkeit, das häusliche Umfeld besser zu integrieren und zu schulen. Studien zeigen, dass mittels kognitiv-behavioraler Familientherapie die Gewichtsreduktion sowie das Selbstwertgefühl der Kinder und Jugendlichen positiv beeinflusst



werden kann (Danielsen et al. 2013, Gunnarsdottir et al. 2014, Israel et al. 1994). Zudem würden bei einer ambulanten Nachbetreuung die erlernten Strategien der Aufrechterhaltung des Behandlungserfolges der Jugendlichen weiter verstärkt und somit gefestigt werden. Ein langfristiger Erfolg wäre vermutlich wahrscheinlicher.

Die Wichtigkeit und Notwendigkeit konservativer Therapieprogramme wird umso deutlicher, wenn nach alternativen Behandlungsmethoden der Adipositas bei Kindern und Jugendlichen gesucht wird. Diese stehen lediglich in limitiertem Umfang zur Verfügung. Eine Option könnte das Medikament Orlistat bieten. Studien zeigen, dass die Einnahme zu einer Gewichtsabnahme (Butryn et al. 2010) sowie einer verbesserten Endothelfunktion bei adipösen Jugendlichen führt (Yu et al. 2013). Maahs et al. (2006) weisen hingegen keine signifikante Reduktion des Gewichtes nach. Eine weitere Alternative stellt die chirurgische Adipositas therapie dar, die jedoch aufgrund von Risiken der schwersten Adipositas vorbehalten werden sollte und für die strenge Indikationskriterien gelten (Blüher et al. 2011).

Zusammenfassend ist zu konstatieren, dass zwar eine Vielzahl von Therapieprogrammen existiert, diese jedoch insgesamt nur unzureichend evaluiert und standardisiert sind. Ziele zukünftiger Forschungen sollten Therapieprogramme sein, die langfristige Erfolge in der Adipositas therapie im Kindes- und Jugendalter ermöglichen, um somit die Gefahr von Folgeerkrankungen zu minimieren.

## **7 Schlussfolgerungen**

Übergewicht und Adipositas führen bereits im Kindes- und Jugendalter durch systemische inflammatorische Prozesse zu kardiovaskulären Folgeerkrankungen. Interventionsmaßnahmen, die derzeit insgesamt unbefriedigende Langzeiterfolge verzeichnen, bedürfen einer kritischen Analyse und einer weitgehenden Standardisierung, um zukünftig das gesellschaftliche und gesundheitspolitische Problem Adipositas erfolgreich anzugehen.

## 8 Literatur- und Quellenangaben

Abe T, Tanaka F, Kawakami Y, Yoshikawa K, Fukunaga T. 1996. Total and segmental subcutaneous adipose tissue volume measured by ultrasound. *Med Sci Sports Exerc*, 28(7):908-12.

Alp H, Karaarslan S, Eklioğlu BS, Atabek ME, Baysal T. 2014. The effect of hypertension and obesity on left ventricular geometry and cardiac functions in children and adolescents. *J Hypertens*, 32(6):1283-92.

Alpsoy S, Akyüz A, Akkoyun DC, Nalbantoğlu B, Topçu B, Değirmenci H, Ozdilek B, Donma MM. 2013. Effect of overweight on cardiac function in children. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 41(8):714-23.

Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter. Leitlinie für Diagnostik, Therapie und Prävention der Adipositas im Kindes- und Jugendalter. Version 2012. (<http://www.a-g-a.de>).

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. 2012. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. 1999. *Biochem Biophys Res Commun*, 425(3):560-4.

Arnold C, Wenta D, Müller-Ehmsen J, Sreeram N, Graf C. 2010. Progenitor cell number is correlated to physical performance in obese children and young adolescents. *Cardiol Young*, 20(4):381-6.

Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. 1997. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 275(5302):964-7.

Atlantis E, Barnes EH, Singh MA. 2006. Efficacy of exercise for treating overweight in children and adolescents: a systematic review. *Int J Obes (Lond)*, 30(7):1027-40.

Bach M. Hrsg. 2007. *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. 261. Aufl. Berlin: De Gruyter.

- Bao W, Threefoot SA, Srinivasan SR, Berenson GS. 1995. Essential hypertension predicted by tracking of elevated blood pressure from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens*, 8(7):657-65.
- Barlow SE, Dietz WH. 1998. Obesity evaluation and treatment: Expert Committee recommendations. The Maternal and Child Health Bureau, Health Resources and Services Administration and the Department of Health and Human Services. *Pediatrics*, 102(3):E29.
- Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, Wattigney WA. 1998. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med*, 338(23):1650-6.
- Berg AH, Scherer PE. 2005. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*, 96(9):939-49.
- Bjørge T, Engeland A, Tverdal A, Smith GD. 2008. Body mass index in adolescence in relation to cause-specific mortality: a follow-up of 230,000 Norwegian adolescents. *Am J Epidemiol*, 168(1):30-7.
- Blüher S, Till H, Kiess W. 2011. Bariatric surgery in extremely obese children and adolescents. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 54(5):577-83.
- Bray GA. 2004. Medical consequences of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(6):2583-9.
- Butryn ML, Wadden TA, Rukstalis MR, Bishop-Gilyard C, Xanthopoulos MS, Loudon D, Berkowitz RI. 2010. Maintenance of weight loss in adolescents: current status and future directions. *J Obes*, 2010:789280.
- Cesari F, Sofi F, Gori AM, Corsani I, Capalbo A, Caporale R, Abbate R, Gensini GF, Casini A. 2012. Physical activity and circulating endothelial progenitor cells: an intervention study. *Eur J Clin Invest*, 42(9):927-32.
- Chagnon YC, Périusse L, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C. 2000. The human obesity gene map: the 1999 update. *Obes Res*, 8(1):89-117.

Chang LT, Yuen CM, Sun CK, Wu CJ, Sheu JJ, Chua S, Yeh KH, Yang CH, Youssef AA, Yip HK. 2009. Role of stromal cell-derived factor-1alpha, level and value of circulating interleukin-10 and endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary angioplasty. *Circ J*, 73(6):1097-104.

Chen J, Jin J, Song M, Dong H, Zhao G, Huang L. 2012. C-reactive protein down-regulates endothelial nitric oxide synthase expression and promotes apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation end-products. *Gene*, 496(2):128-35.

Chen X, Wang Y. 2008. Tracking of blood pressure from childhood to adulthood: a systematic review and meta-regression analysis. *Circulation*, 117(25):3171-80.

Chinali M, de Simone G, Roman MJ, Lee ET, Best LG, Howard BV, Devereux RB. 2006. Impact of obesity on cardiac geometry and function in a population of adolescents: the Strong Heart Study. *J Am Coll Cardiol*, 47(11):2267-73.

Choi J, Joseph L, Pilote L. 2013. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*, (3):232-44.

Choi JH, Kim KL, Huh W, Kim B, Byun J, Suh W, Sung J, Jeon ES, Oh HY, Kim DK. 2004. Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(7):1246-52.

Cottler-Fox MH, Lapidot T, Petit I, Kollet O, DiPersio JF, Link D, Devine S. 2003. Stem cell mobilization. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 419-37.

Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J, Bell R, Badaru A, Talton JW, Crume T, Liese AD, Merchant AT, Lawrence JM, Reynolds K, Dolan L, Liu LL, Hamman RF; SEARCH for Diabetes in Youth Study. 2014. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA*, 311(17):1778-86.

Daniels SR. 2001. Cardiovascular disease risk factors and atherosclerosis in children and adolescents. *Curr Atheroscler Rep*, 3(6):479-85.

Daniels SR, Khoury PR, Morrison JA. 1997. The utility of body mass index as a measure of body fatness in children and adolescents: differences by race and gender. *Pediatrics*, 99(6):804-7.

Dannemann A, Ernert A, Rücker P, Babitsch B, Wiegand S. 2011. The influence of migration background and parental education on childhood obesity and the metabolic syndrome. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 54(5):636-41.

Danielsen YS, Nordhus IH, Júlíusson PB, Mæhle M, Pallesen S. 2013. Effect of a family-based cognitive behavioural intervention on body mass index, self-esteem and symptoms of depression in children with obesity (aged 7-13): a randomised waiting list controlled trial. *Obes Res Clin Pract*, 7(2):e116-e128.

De Bourdeaudhuij I, Lefevre J, Deforche B, Wijndaele K, Matton L, Philippaerts R. 2005. Physical activity and psychosocial correlates in normal weight and overweight 11 to 19 year olds. *Obes Res*, 13(6):1097-105.

De Onis M, Blössner M, Borghi E. 2010. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. *Am J Clin Nutr*, 92(5):1257-64.

De Vries U, Koletzko B, Petermann F. 2008. Adipositas im Kindes- und Jugendalter. Elternzentrierte Interventionen. *Monatsschr Kinderheilkd*, 156:177-186.

Diamond FB Jr, Cuthbertson D, Hanna S, Eichler D. 2004. Correlates of adiponectin and the leptin/adiponectin ratio in obese and non-obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 17(8):1069-75.

Dietz WH. 1998. Health consequences of obesity in youth: childhood predictors of adult disease. *Pediatrics*, 101(3 Pt 2):518-25.

- Diller GP, van Eijl S, Okonko DO, Howard LS, Ali O, Thum T, Wort SJ, Bédard E, Gibbs JS, Bauersachs J, Hobbs AJ, Wilkins MR, Gatzoulis MA, Wharton J. 2008. Circulating endothelial progenitor cells in patients with Eisenmenger syndrome and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, 117(23):3020-30.
- Dimmeler S, Vasa-Nicotera M. 2003. Aging of progenitor cells: limitation for regenerative capacity? *J Am Coll Cardiol*, 42(12):2081-2.
- DiPietro L, Mossberg HO, Stunkard AJ. 1994. A 40-year history of overweight children in Stockholm: life-time overweight, morbidity, and mortality. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 18(9):585-90.
- Durmuş B, van Rossem L, Duijts L, Arends LR, Raat H, Moll HA, Hofman A, Steegers EA, Jaddoe VW. 2011. Breast-feeding and growth in children until the age of 3 years: the Generation R Study. *Br J Nutr*, 105(11):1704-11.
- Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. 2002. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet*, 360(9331):473-82.
- Egan CG, Lavery R, Caporali F, Fondelli C, Laghi-Pasini F, Dotta F, Sorrentino V. 2008. Generalised reduction of putative endothelial progenitors and CXCR4-positive peripheral blood cells in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 51(7):1296-305.
- Epstein LH, Roemmich JN, Raynor HA. 2001. Behavioral therapy in the treatment of pediatric obesity. *Pediatr Clin North Am*, 48(4):981-93.
- Epstein LH, Valoski A, Wing RR, McCurley J. 1990. Ten-year follow-up of behavioral, family-based treatment for obese children. *JAMA*, 264(19):2519-23.
- Fadini GP, Avogaro A. 2010. Potential manipulation of endothelial progenitor cells in diabetes and its complications. *Diabetes Obes Metab*, 12(7):570-83.
- Fadini GP, de Kreutzenberg SV, Coracina A, Baesso I, Agostini C, Tiengo A, Avogaro A. 2006. Circulating CD34+ cells, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *Eur Heart J*, 27(18):2247-55.

- Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Engelgau MM, Burrows NR, Geiss LS, Valdez R, Beckles GL, Saaddine J, Gregg EW, Williamson DF, Narayan KM. 2000. Type 2 diabetes among North American children and adolescents: an epidemiologic review and a public health perspective. *J Pediatr*, 136(5):664-72.
- Fan H, Zhang XQ, Li J. 2008. Effects of life style intervention on obesity-related vascular dysfunction in children. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 29(7):672-5.
- Farooqi IS, O'Rahilly S. 2005. Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med*, 56:443-58.
- Farpour-Lambert NJ, Aggoun Y, Marchand LM, Martin XE, Herrmann FR, Beghetti M. 2009. Physical activity reduces systemic blood pressure and improves early markers of atherosclerosis in pre-pubertal obese children. *J Am Coll Cardiol*, 54(25):2396-406.
- Favaro A, Santonastaso P. 1995. Effects of parents' psychological characteristics and eating behaviour on childhood obesity and dietary compliance. *J Psychosom Res*, 39(2):145-51.
- Field AE, Cook NR, Gillman MW. 2005. Weight status in childhood as a predictor of becoming overweight or hypertensive in early adulthood. *Obes Res*, 13(1):163-9.
- Flodmark CE, Ohlsson T, Rydén O, Sveger T. 1993. Prevention of progression to severe obesity in a group of obese schoolchildren treated with family therapy. *Pediatrics*, 91(5):880-4.
- Fonseca H, Palmeira AL, Martins S, Ferreira PD. 2014. Short- and medium-term impact of a residential weight-loss camp for overweight adolescents. *Int J Adolesc Med Health*, 26(1):33-8.
- Ford ES, Galuska DA, Gillespie C, Will JC, Giles WH, Dietz WH. 2001. C-reactive protein and body mass index in children: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Pediatr*, 138(4):486-92.

- Freedman DS, Mei Z, Srinivasan SR, Berenson GS, Dietz WH. 2007. Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *J Pediatr*, 150(1):12-17.e2.
- Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. 1999. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*, 103(6 Pt 1):1175-82.
- Friedemann C, Heneghan C, Mahtani K, Thompson M, Perera R, Ward AM. 2012. Cardiovascular disease risk in healthy children and its association with body mass index: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 345:e4759.
- Fröhlich G, Pott W, Albayrak Ö, Hebebrand J, Pauli-Pott U. 2011. Conditions of long-term success in a lifestyle intervention for overweight and obese youths. *Pediatrics*, 128(4):e779-85.
- Gallagher KA, Liu ZJ, Xiao M, Chen H, Goldstein LJ, Buerk DG, Nedeau A, Thom SR, Velazquez OC. 2007. Diabetic impairments in NO-mediated endothelial progenitor cell mobilization and homing are reversed by hyperoxia and SDF-1 alpha. *J Clin Invest*, 117(5):1249-59.
- Geiger H, Van Zant G. 2002. The aging of lympho-hematopoietic stem cells. *Nat Immunol*, 3(4):329-33.
- George J, Goldstein E, Abashidze S, Deutsch V, Shmilovich H, Finkelstein A, Herz I, Miller H, Keren G. 2004. Circulating endothelial progenitor cells in patients with unstable angina: association with systemic inflammation. *Eur Heart J*, 25(12):1003-8.
- George J, Patal S, Wexler D, Sharabi Y, Peleg E, Kamari Y, Grossman E, Sheps D, Keren G, Roth A. 2006. Circulating adiponectin concentrations in patients with congestive heart failure. *Heart*, 92(10):1420-4.
- Gill M, Dias S, Hattori K, Rivera ML, Hicklin D, Witte L, Girardi L, Yurt R, Himel H, Rafii S. 2001. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res*, 88(2):167-74.



- Goebel R, Schulz M. 2006. A definition of overweight and obesity. *Pharm Unserer Zeit*, 35(6):478-83.
- Graf C. 2010. Juvenile obesity and the role of physical activity and inactivity. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 53(7):699-706.
- Grisar JC, Haddad F, Gomari FA, Wu JC. 2011. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disease and chronic inflammation: from biomarker to therapeutic agent. *Biomark Med*, 5(6):731-44.
- Gruber W, Hüls G. 2009. Outpatient and Inpatient Adiposity Therapy in Children and Adolescents. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, Jahrgang 60, Nr. 5, 112-116.
- Gunnarsdottir T, Einarsson SM, Njardvik U, Olafsdottir AS, Gunnarsdottir AB, Helgason T, Bjarnason R. 2014. Family-based behavioral treatment for obese children - results and two year follow up. *Laeknabladid*, 100(3):139-45.
- Güven H, Shepherd RM, Bach RG, Capoccia BJ, Link DC. 2006. The number of endothelial progenitor cell colonies in the blood is increased in patients with angiographically significant coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 48(8):1579-87.
- Haas GM, Bertsch T, Schwandt P. 2014. Prehypertension and cardiovascular risk factors in children and adolescents participating in the community-based prevention education program family heart study. *Int J Prev Med*, 5(Suppl 1):S50-6.
- Haji SA, Ulusoy RE, Patel DA, Srinivasan SR, Chen W, Delafontaine P, Berenson GS. 2006. Predictors of left ventricular dilatation in young adults (from the Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*, 98(9):1234-7.
- Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Kränkel N, Shu Y, Baither Y, Gielen S, Thiele H, Gummert JF, Mohr FW, Schuler G. 2003. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, 107(25):3152-8.

Handgretinger R, Gordon PR, Leimig T, Chen X, Buhring HJ, Niethammer D, Kuci S. 2003. Biology and plasticity of CD133+ hematopoietic stem cells. *Ann N Y Acad Sci*, 996:141-51.

Hanevold C, Waller J, Daniels S, Portman R, Sorof J; International Pediatric Hypertension Association. 2004. The effects of obesity, gender, and ethnic group on left ventricular hypertrophy and geometry in hypertensive children: a collaborative study of the International Pediatric Hypertension Association. *Pediatrics*, 113(2):328-33.

Hardy LR, Harrell JS, Bell RA. 2004. Overweight in children: definitions, measurements, confounding factors, and health consequences. *J Pediatr Nurs*, 19(6):376-84.

Hattori K, Dias S, Heissig B, Hackett NR, Lyden D, Tateno M, Hicklin DJ, Zhu Z, Witte L, Crystal RG, Moore MA, Rafii S. 2001a. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med*, 193(9):1005-14.

Hattori K, Heissig B, Tashiro K, Honjo T, Tateno M, Shieh JH, Hackett NR, Quitoriano MS, Crystal RG, Rafii S, Moore MA. 2001b. Plasma elevation of stromal cell-derived factor-1 induces mobilization of mature and immature hematopoietic progenitor and stem cells. *Blood*, 97(11):3354-60.

Hebebrand J, Bammann K, Hinney A. 2010. Genetic determinants of obesity. Current issues. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 53(7):674-80.

Heida NM, Müller JP, Cheng IF, Leifheit-Nestler M, Faustin V, Riggert J, Hasenfuss G, Konstantinides S, Schäfer K. 2010. Effects of obesity and weight loss on the functional properties of early outgrowth endothelial progenitor cells. *J Am Coll Cardiol*, 55(4):357-67.

Heiss C, Keymel S, Niesler U, Ziemann J, Kelm M, Kalka C. 2005. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, 45(9):1441-8.

- Hiasa K, Ishibashi M, Ohtani K, Inoue S, Zhao Q, Kitamoto S, Sata M, Ichiki T, Takeshita A, Egashira K. 2004. Gene transfer of stromal cell-derived factor-1alpha enhances ischemic vasculogenesis and angiogenesis via vascular endothelial growth factor/endothelial nitric oxide synthase-related pathway: next-generation chemokine therapy for therapeutic neovascularization. *Circulation*, 109(20):2454-61.
- Hill DJ, Prapavessis H, Shoemaker JK, Jackman M, Mahmud FH, Clarson C. 2013. Relationship between Birth Weight and Metabolic Status in Obese Adolescents. *ISRN Obes*, 2013:490923.
- Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. 2003. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 348(7):593-600.
- Hincz P, Borowski D, Krekora M, Podciechowski L, Horzelski W, Wilczyński J. 2009. Maternal obesity as a perinatal risk factor. *Ginekol Pol*, 80(5):334-7.
- Hoetzer GL, Van Guilder GP, Irmiger HM, Keith RS, Stauffer BL, DeSouza CA. 2007. Aging, exercise, and endothelial progenitor cell clonogenic and migratory capacity in men. *J Appl Physiol* (1985), 102(3):847-52.
- Hoffmeister U, Molz E, Bullinger M, van Egmond-Fröhlich A, Goldapp C, Mann R, Ravens-Sieberer U, Reinehr T, Westenhöfer J, Wille N, Holl RW. 2011. Evaluation of obesity treatment in children and adolescents (EvAKuJ Study). Role of therapeutic concept, certification, and quality indicators. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 54(5):603-10.
- Holub M, Götz M. 2003. Ursachen und Folgen von Adipositas im Kindes- und Jugendalter. *Monatsschr Kinderheilkd*, 151:227-236.
- Hristov M, Erl W, Weber PC. 2003. Endothelial progenitor cells: isolation and characterization. *Trends Cardiovasc Med*, 13(5):201-6.
- International Association for the Study of Obesity. 2012. Obesity data portal. (<http://www.iaso.org/resources/obesity-data-portal/>).

- Invitti C, Guzzaloni G, Gilardini L, Morabito F, Viberti G. 2003. Prevalence and concomitants of glucose intolerance in European obese children and adolescents. *Diabetes Care*, 26(1):118-24.
- Israel AC, Guile CA, Baker JE, Silverman WK. 1994. An evaluation of enhanced self-regulation training in the treatment of childhood obesity. *J Pediatr Psychol*, 19(6):737-49.
- Janssen I. 2007. Physical activity guidelines for children and youth. *Can J Public Health*, 98 Suppl 2:S109-21.
- Jie KE, Goossens MH, van Oostrom O, Lilien MR, Verhaar MC. 2009. Circulating endothelial progenitor cell levels are higher during childhood than in adult life. *Atherosclerosis*, 202(2):345-7.
- Jung C, Fischer N, Fritzenwanger M, Thude H, Ferrari M, Fabris M, Brehm BR, Barz D, Figulla HR. 2009. Endothelial progenitor cells in adolescents: impact of overweight, age, smoking, sport and cytokines in younger age. *Clin Res Cardiol*, 98(3):179-88.
- Juonala M, Magnussen CG, Berenson GS, Venn A, Burns TL, Sabin MA, Srinivasan SR, Daniels SR, Davis PH, Chen W, Sun C, Cheung M, Viikari JS, Dwyer T, Raitakari OT. 2011. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. *N Engl J Med*, 365(20):1876-85.
- Kalk P, Guthmann F, Krause K, Relle K, Godes M, Gossing G, Halle H, Wauer R, Hoher B. 2009. Impact of maternal body mass index on neonatal outcome. *Eur J Med Res*, 14(5):216-22.
- Kamba M, Meshitsuka S, Iriguchi N, Koda M, Kimura K, Ogawa T. 2000. Measurement of relative fat content by proton magnetic resonance spectroscopy using a clinical imager. *J Magn Reson Imaging*, 11(3):330-5.
- Kantartzis K, Rittig K, Balletshofer B, Machann J, Schick F, Porubská K, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. 2006. The relationships of plasma adiponectin with a favorable lipid profile, decreased inflammation, and less ectopic fat accumulation depend on adiposity. *Clin Chem*, 52(10):1934-42.

Kaufman CL, Kaiser DR, Kelly AS, Dengel JL, Steinberger J, Dengel DR. 2008. Diet revision in overweight children: effect on autonomic and vascular function. *Clin Auton Res*, 18(2):105-8.

Kaushal S, Amiel GE, Guleserian KJ, Shapira OM, Perry T, Sutherland FW, Rabkin E, Moran AM, Schoen FJ, Atala A, Soker S, Bischoff J, Mayer JE Jr. 2001. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded ex vivo. *Nat Med*, 7(9):1035-40.

Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ; Framingham Study. 2003. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23(3):434-9.

Kelly KP, Kirschenbaum DS. 2011. Immersion treatment of childhood and adolescent obesity: the first review of a promising intervention. *Obes Rev*, 12(1):37-49.

Kelly AS, Wetzsteon RJ, Kaiser DR, Steinberger J, Bank AJ, Dengel DR. 2004. Inflammation, insulin, and endothelial function in overweight children and adolescents: the role of exercise. *J Pediatr*, 145(6):731-6.

Kelm M, Strauer BE. 1999. Endotheliale Dysfunktion. Therapeutische und prognostische Relevanz. *Internist*, 40:1300-1307.

Kersting M, Chahda C, Schöch G. 1993a. Optimierte Mischkost als Präventionsernährung für Kinder und Jugendliche. Teil 1: Lebensmittelauswahl. *Ernährungs-Umschau*, 40: 164-169.

Kersting M, Zempleni S, Schöch G. 1993b. Optimierte Mischkost als Präventionsernährung für Kinder und Jugendliche. Teil 2: Nährstoffzufuhr. *Ernährungs-Umschau*, 40: 204-209.

Kibar AE, Paç FA, Oflaz MB, Ballı S, Ece I. 2012. Echocardiographic evaluation of left ventricular function in normotensive obese children: a comparative analysis according to body mass index. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 40(4):337-46.

- Kiess W, Reich A, Müller G, Galler A, Kapellen T, Raile K, Böttner A, Seidel B, Kratzsch J. 2001. Obesity in childhood and adolescence: clinical diagnosis and management. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 14 Suppl 6:1431-40.
- Kim J, Bhattacharjee R, Kheirandish-Gozal L, Khalyfa A, Sans Capdevila O, Tauman R, Gozal D. 2010. Insulin sensitivity, serum lipids, and systemic inflammatory markers in school-aged obese and nonobese children. *Int J Pediatr*, 2010:846098.
- Kinik ST, Varan B, Yildirim SV, Tokel K. 2006. The effect of obesity on echocardiographic and metabolic parameters in childhood. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 19(8):1007-14.
- Kissel CK, Lehmann R, Assmus B, Aicher A, Honold J, Fischer-Rasokat U, Heeschen C, Spyridopoulos I, Dimmeler S, Zeiher AM. 2007. Selective functional exhaustion of hematopoietic progenitor cells in the bone marrow of patients with postinfarction heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 49(24):2341-9.
- Koga M, Otsuki M, Matsumoto S, Saito H, Mukai M, Kasayama S. 2007. Negative association of obesity and its related chronic inflammation with serum glycated albumin but not glycated hemoglobin levels. *Clin Chim Acta*, 378(1-2):48-52.
- Koletzko B. 2000. Power Kids. Neue Therapiekonzepte bei Übergewicht im Kindesalter. *Hauner Journal*, Heft 2/2000.
- Koletzko B. 2005. Was macht Kinder dick? Ursachen und Folgen des kindlichen Übergewichts. *Ernährungs-Umschau* 52:94-98
- Koletzko B, Schiess S, Brands B, Haile G, Demmelmair H, von Kries R, Grote V. 2010. Infant feeding practice and later obesity risk. Indications for early metabolic programming. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 53(7):666-73.
- Kollet O, Dar A, Shvitiel S, Kalinkovich A, Lapid K, Sztainberg Y, Tesio M, Samstein RM, Goichberg P, Spiegel A, Elson A, Lapidot T. 2006. Osteoclasts degrade endosteal components and promote mobilization of hematopoietic progenitor cells. *Nat Med*, 12(6):657-64.

Kondo T, Hayashi M, Takeshita K, Numaguchi Y, Kobayashi K, Iino S, Inden Y, Murohara T. 2004. Smoking cessation rapidly increases circulating progenitor cells in peripheral blood in chronic smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(8):1442-7.

Kortelainen ML. 1997. Adiposity, cardiac size and precursors of coronary atherosclerosis in 5 to 15-year-old children: a retrospective study of 210 violent deaths. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 21(8):691-7.

Kotchen TA. 2010. Obesity-related hypertension: epidemiology, pathophysiology, and clinical management. *Am J Hypertens*, 23(11):1170-8.

Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, Kobes S, Tataranni PA, Hanson RL, Knowler WC, Lindsay RS. 2003. Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes Care*, 26(6):1745-51.

Kränkel N, Adams V, Linke A, Gielen S, Erbs S, Lenk K, Schuler G, Hambrecht R. 2005. Hyperglycemia reduces survival and impairs function of circulating blood-derived progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25(4):698-703.

Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geis HC, Hesse V, von Hippel A, Jaeger U, Johnsen D, Korte W, Menner K, Müller G, Müller JM, Niemann-Pilatus A, Remer T, Schaefer F, Wittchen H-U, Zabransky S, Zellner K, Ziegler A, Hebebrand J. 2001. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 149 (8):807-818.

Kurth BM, Schaffrath Rosario A. 2007. The prevalence of overweight and obese children and adolescents living in Germany. Results of the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 50(5-6):736-43.

- Kurtoğlu S, Hatipoğlu N, Mazıcıoğlu M, Kendirici M, Keskin M, Kondolot M. 2010. Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2(3):100-6.
- L'Allemand D, Wiegand S, Reinehr T, Müller J, Wabitsch M, Widhalm K, Holl R; APV-Study Group. 2008. Cardiovascular risk in 26,008 European overweight children as established by a multicenter database. *Obesity (Silver Spring)*, 16(7):1672-9.
- Lampert T, Sygusch R, Schlack R. 2007. Use of electronic media in adolescence. Results of the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 50(5-6):643-52.
- Lanfer A, Hebestreit A, Ahrens W. 2010. Einfluss der Ernährung und des Essverhaltens auf die Entwicklung der Adipositas bei Kindern und Jugendlichen. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 53(7):690-698.
- Lange D, Plachta-Danielzik S, Landsberg B, Müller MJ. 2010. Social inequality, migration, and healthy environments as determinants of overweight of children and adolescents. Results of the Kiel Obesity Prevention Study (KOPS). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 53(7):707-15.
- Lapidot T, Dar A, Kollet O. 2005. How do stem cells find their way home? *Blood*, 106(6):1901-10.
- Laskey MA. 1996. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Nutrition*, 12(1):45-51.
- Laufs U, Urhausen A, Werner N, Scharhag J, Heitz A, Kissner G, Böhm M, Kindermann W, Nickenig G. 2005. Running exercise of different duration and intensity: effect on endothelial progenitor cells in healthy subjects. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 12(4):407-14.



- Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jürgens K, Miche E, Böhm M, Nickenig G. 2004. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*, 109(2):220-6.
- Lavoie V, Kernaleguen AE, Charron G, Farhat N, Cossette M, Mamarbachi AM, Allen BG, Rhéaume E, Tardif JC. 2011. Functional effects of adiponectin on endothelial progenitor cells. *Obesity (Silver Spring)*, 19(4):722-8.
- Ledney GD, Stewart DA, Gruber DF, Gelston HM Jr, Exum ED, Sheehy PA. 1985. Hematopoietic colony-forming cells from mice after wound trauma. *J Surg Res*, 38(1):55-65.
- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. 1990. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*, 322(22):1561-6.
- Libby P, Ridker PM, Hansson GK, Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. 2009. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*, 54(23):2129-38.
- Llavadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A, Walsh K, Isner JM, Asahara T. 2001. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow--derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest*, 108(3):399-405.
- Lorenzen J, David S, Bahlmann FH, de Groot K, Bahlmann E, Kielstein JT, Haller H, Fliser D. 2010. Endothelial progenitor cells and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease - a prospective follow-up study. *PLoS One*, 5(7):e11477.
- Ludwig DS, Ebbeling CB. 2001. Type 2 diabetes mellitus in children: primary care and public health considerations. *JAMA*, 286(12):1427-30.
- Ludwig DS, Pereira MA, Kroenke CH, Hilner JE, Van Horn L, Slattery ML, Jacobs DR Jr. 1999. Dietary fiber, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults. *JAMA*, 282(16):1539-46.

- Maahs D, de Serna DG, Kolotkin RL, Ralston S, Sandate J, Qualls C, Schade DS. 2006. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of orlistat for weight loss in adolescents. *Endocr Pract*, 12(1):18-28.
- MacEneaney OJ, Kushner EJ, Van Guilder GP, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. 2009. Endothelial progenitor cell number and colony-forming capacity in overweight and obese adults. *Int J Obes (Lond)*, 33(2):219-25.
- Maggio AB, Aggoun Y, Marchand LM, Martin XE, Herrmann F, Beghetti M, Farpour-Lambert NJ. 2008. Associations among obesity, blood pressure, and left ventricular mass. *J Pediatr*, 152(4):489-93.
- Mast M, Sönnichsen A, Langnäse K, Labitzke K, Bruse U, Preub U, Muller MJ. 2002. Inconsistencies in bioelectrical impedance and anthropometric measurements of fat mass in a field study of prepubertal children. *Br J Nutr*, 87(2):163-75.
- Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. 2002. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol*, 147(2):173-80.
- Mazor-Aronovitch K, Lotan D, Modan-Moses D, Fradkin A, Pinhas-Hamiel O. 2014. Blood pressure in obese and overweight children and adolescents. *Isr Med Assoc J*, 16(3):157-61.
- McGill HC Jr, McMahan CA, Malcom GT, Oalmann MC, Strong JP. 1997. Effects of serum lipoproteins and smoking on atherosclerosis in young men and women. The PDAY Research Group. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17(1):95-106.
- McMurray RG, Harrell JS, Levine AA, Gansky SA. 1995. Childhood obesity elevates blood pressure and total cholesterol independent of physical activity. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 19(12):881-6.
- Michaud SE, Dussault S, Haddad P, Groleau J, Rivard A. 2006. Circulating endothelial progenitor cells from healthy smokers exhibit impaired functional activities. *Atherosclerosis*, 187(2):423-32.

Micozzi MS, Albanes D, Jones DY, Chumlea WC. 1986. Correlations of body mass indices with weight, stature, and body composition in men and women in NHANES I and II. *Am J Clin Nutr.* 44(6):725-31.

Moreno LA, Blay MG, Rodríguez G, Blay VA, Mesana MI, Olivares JL, Fleta J, Sarria A, Bueno M; AVENA-Zaragoza Study Group. 2006. Screening performances of the International Obesity Task Force body mass index cut-off values in adolescents. *J Am Coll Nutr.* 25(5):403-8.

Movahed MR, Saito Y. 2008. Obesity is associated with left atrial enlargement, E/A reversal and left ventricular hypertrophy. *Exp Clin Cardiol.* 13(2):89-91.

Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH. 1992. Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Engl J Med.* 327(19):1350-5.

Müller-Ehmsen J, Braun D, Schneider T, Pfister R, Worm N, Wielckens K, Scheid C, Frommolt P, Flesch M. 2008. Decreased number of circulating progenitor cells in obesity: beneficial effects of weight reduction. *Eur Heart J.* 29(12):1560-8.

Nakajima T, Fujioka S, Tokunaga K, Hirobe K, Matsuzawa Y, Tarui S. 1985. Noninvasive study of left ventricular performance in obese patients: influence of duration of obesity. *Circulation.* 71(3):481-6.

Newman WP 3rd, Freedman DS, Voors AW, Gard PD, Srinivasan SR, Cresanta JL, Williamson GD, Webber LS, Berenson GS. 1986. Relation of serum lipoprotein levels and systolic blood pressure to early atherosclerosis. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med.* 314(3):138-44.

Nishimura R, Kanda A, Sano H, Matsudaira T, Miyashita Y, Morimoto A, Shirasawa T, Kawaguchi T, Tajima N. 2006. Glycated albumin is low in obese, non-diabetic children. *Diabetes Res Clin Pract.* 71(3):334-8.

Oliveras A, Soler MJ, Martínez-Estrada OM, Vázquez S, Marco-Feliu D, Vila JS, Vilaró S, Lloveras J. 2008. Endothelial progenitor cells are reduced in refractory hypertension. *J Hum Hypertens.* 22(3):183-90.

Owen CG, Whincup PH, Orfei L, Chou QA, Rudnicka AR, Wathern AK, Kaye SJ, Eriksson JG, Osmond C, Cook DG. 2009. Is body mass index before middle age related to coronary heart disease risk in later life? Evidence from observational studies. *Int J Obes (Lond)*, 33(8):866-77.

Özüyaman B, Ebner P, Niesler U, Ziemann J, Kleinbongard P, Jax T, Gödecke A, Kelm M, Kalka C. 2005. Nitric oxide differentially regulates proliferation and mobilization of endothelial progenitor cells but not of hematopoietic stem cells. *Thromb Haemost*, 94(4):770-2.

Park MH, Falconer C, Viner RM, Kinra S. 2012a. The impact of childhood obesity on morbidity and mortality in adulthood: a systematic review. *Obes Rev*, 13(11):985-1000.

Park JH, Miyashita M, Kwon YC, Park HT, Kim EH, Park JK, Park KB, Yoon SR, Chung JW, Nakamura Y, Park SK. 2012b. A 12-week after-school physical activity programme improves endothelial cell function in overweight and obese children: a randomised controlled study. *BMC Pediatr*, 12:111.

Park HS, Park JY, Yu R. 2005. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes Res Clin Pract*, 69(1):29-35.

Parsons TJ, Power C, Logan S, Summerbell CD. 1999. Childhood predictors of adult obesity: a systematic review. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 23 Suppl 8:S1-107.

Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MA, Rafii S. 2000. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*, 95(3):952-8.

Pereira MA, Jacobs DR Jr, Van Horn L, Slaterry ML, Kartashov AI, Ludwig DS. 2002. Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study. *JAMA*, 287(16):2081-9.

Petit I, Jin D, Rafii S. 2007. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. *Trends Immunol*, 28(7):299-307.

- Pietrobelli A, Faith MS, Allison DB, Gallagher D, Chiumello G, Heymsfield SB. 1998. Body mass index as a measure of adiposity among children and adolescents: a validation study. *J Pediatr*, 132(2):204-10.
- Pirro M, Schillaci G, Menecali C, Bagaglia F, Paltriccia R, Vaudo G, Mannarino MR, Mannarino E. 2007. Reduced number of circulating endothelial progenitors and HOXA9 expression in CD34+ cells of hypertensive patients. *J Hypertens*, 25(10):2093-9.
- Poskitt EM. 1995. Defining childhood obesity: the relative body mass index (BMI). European Childhood Obesity group. *Acta Paediatr*, 84(8):961-3.
- Quirici N, Soligo D, Caneva L, Servida F, Bossolasco P, Deliliers GL. 2001. Differentiation and expansion of endothelial cells from human bone marrow CD133(+) cells. *Br J Haematol*, 115(1):186-94.
- Rahman M, Lane A, Swindell A, Bartram S. 2014. Introduction to flow cytometry. (<http://www.abdserotec.com/introduction-to-flow-cytometrie.html>).
- Raj M. 2012. Obesity and cardiovascular risk in children and adolescents. *Indian J Endocrinol Metab*, 16(1):13-9.
- Raj M, Kumar RK. 2010. Obesity in children & adolescents. *Indian J Med Res*, 132:598-607.
- Rank M, Siegrist M, Langhof H, Halle M. 2011. Effekte einer Lebensstilintervention auf den BMI-SDS und die Lebensqualität im Follow-up über 12 Monate bei übergewichtigen und adipösen Kindern. *Journal für Ernährungsmedizin*, 13 (3):17.
- Rank M, Siegrist M, Wilks DC, Haller B, Wolfarth B, Langhof H, Halle M. 2012. Long-term effects of an inpatient weight-loss program in obese children and the role of genetic predisposition-rationale and design of the LOGIC-trial. *BMC Pediatr*, 12:30.
- Rauh-Pfeiffer A, Koletzko B. 2007. Übergewicht und Adipositas im Kindes- und Jugendalter. *Monatsschr Kinderheilkd*, 155:469-483.

- Rauscher FM, Goldschmidt-Clermont PJ, Davis BH, Wang T, Gregg D, Ramaswami P, Phippen AM, Annex BH, Dong C, Taylor DA. 2003. Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis. *Circulation*, 108(4):457-63.
- Reilly JJ, Wilson J, Durnin JV. 1995. Determination of body composition from skinfold thickness: a validation study. *Arch Dis Child*, 73(4):305-10.
- Reinehr T, Andler W. 2004. Changes in the atherogenic risk factor profile according to degree of weight loss. *Arch Dis Child*, 89(5):419-22.
- Reinehr T, Andler W, Denzer C, Siegried W, Mayer H, Wabitsch M. 2005. Cardiovascular risk factors in overweight German children and adolescents: relation to gender, age and degree of overweight. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 15(3):181-7.
- Reinehr T, Wabitsch M. 2003. Structured survey of treatment programs for obese children and adolescents. Project of the working group on obesity in childhood and adolescence. *Monatsschr Kinderheilkd*, 151:757-761.
- Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, Koodie L, Marker PH, Verfaillie CM. 2002. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest*, 109(3):337-46.
- Riddoch CJ, Leary SD, Ness AR, Blair SN, Deere K, Mattocks C, Griffiths A, Davey Smith G, Tilling K. 2009. Prospective associations between objective measures of physical activity and fat mass in 12-14 year old children: the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *BMJ*, 339:b4544.
- Rizk NM, Yousef M. 2012. Association of lipid profile and waist circumference as cardiovascular risk factors for overweight and obesity among school children in Qatar. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 5:425-32.
- Rivard A, Berthou-Soulie L, Principe N, Kearney M, Curry C, Branellec D, Semenza GL, Isner JM. 2000. Age-dependent defect in vascular endothelial growth factor expression is associated with reduced hypoxia-inducible factor 1 activity. *J Biol Chem*, 275(38):29643-7.

- RKI. 2007. Erste Ergebnisse der KiGGS-Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland. Herausgeber: Robert-Koch-Institut.
- Rocchini AP, Katch V, Schork A, Kelch RP. 1987. Insulin and blood pressure during weight loss in obese adolescents. *Hypertension*, 10(3):267-73.
- Rosaneli CF, Baena CP, Auler F, Nakashima AT, Netto-Oliveira ER, Oliveira AB, Guarita-Souza LC, Olandoski M, Faria-Neto JR. 2014. Elevated Blood Pressure and Obesity in Childhood: A Cross-Sectional Evaluation of 4,609 Schoolchildren. *Arq Bras Cardiol*, 0.
- Rossi F, Bertone C, Montanile F, Miglietta F, Lubrano C, Gandini L, Santiemma V. 2010. HDL cholesterol is a strong determinant of endothelial progenitor cells in hypercholesterolemic subjects. *Microvasc Res*, 80(2):274-9.
- Ruiz JR, Ortega FB. 2009. Physical activity and cardiovascular disease risk factors in children and adolescents. *Current Cardiovascular Risk Reports*, 3(4):281-287.
- Sasson Z, Rasooly Y, Gupta R, Rasooly I. 1996. Left atrial enlargement in healthy obese: prevalence and relation to left ventricular mass and diastolic function. *Can J Cardiol*, 12(3):257-63.
- Scheubel RJ, Zorn H, Silber RE, Kuss O, Morawietz H, Holtz J, Simm A. 2003. Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol*, 42(12):2073-80.
- Schiel R, Beltschikow W, Kramer G, Stein G. 2006. Overweight, obesity and elevated blood pressure in children and adolescents. *Eur J Med Res*, 11(3):97-101.
- Schmidt-Lucke C, Rössig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kämper U, Dimmeler S, Zeiher AM. 2005. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*, 111(22):2981-7.

- Seidman DS, Laor A, Gale R, Stevenson DK, Danon YL. 1991. A longitudinal study of birth weight and being overweight in late adolescence. *Am J Dis Child*, 145(7):782-5.
- Shaffer RG, Greene S, Arshi A, Supple G, Bantly A, Moore JS, Mohler ER 3rd. 2006. Flow cytometric measurement of circulating endothelial cells: the effect of age and peripheral arterial disease on baseline levels of mature and progenitor populations. *Cytometry B Clin Cytom*, 70(2):56-62.
- Shantsila E, Watson T, Lip GY. 2007. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. *J Am Coll Cardiol*, 49(7):741-52.
- Shetty GK, Economides PA, Horton ES, Mantzoros CS, Veves A. 2004. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care*, 27(10):2450-7.
- Shirasawa T, Ochiai H, Ohtsu T, Nishimura R, Morimoto A, Hoshino H, Tajima N, Kokaze A. 2013. LDL-cholesterol and body mass index among Japanese schoolchildren: a population-based cross-sectional study. *Lipids Health Dis*, 12:77.
- Siegfried W, Kromeyer-Hauschild K, Zabel G, Siegfried A, Wabitsch M, Holl RW. 2006. Long-term inpatient treatment of extreme juvenile obesity: an 18-month catamnestic study. *MMW Fortschr Med*, 148(35-36):39-41.
- Siegrist M, Pertl A, Schlenz I, Langhof H, Wolfahrt B, Halle M. 2009. Stationäre Adipositas therapie bei adipösen Kindern und Jugendlichen - Interventionsergebnisse und Follow-up nach sechs Monaten. *Journal für Ernährungsmedizin*, 11 (1), 22.
- Sieveking DP, Buckle A, Celermajer DS, Ng MK. 2008. Strikingly different angiogenic properties of endothelial progenitor cell subpopulations: insights from a novel human angiogenesis assay. *J Am Coll Cardiol*, 51(6):660-8.
- Sinaiko AR. 1996. Hypertension in children. *N Engl J Med*, 335(26):1968-73.



- Snead DB, Birge SJ, Kohrt WM. 1993. Age-related differences in body composition by hydrodensitometry and dual-energy X-ray absorptiometry. *J Appl Physiol*, 74(2):770-5.
- Sorof J, Daniels S. 2002. Obesity hypertension in children: a problem of epidemic proportions. *Hypertension*, 40(4):441-7.
- Spruijt-Metz D. 2011. Etiology, Treatment and Prevention of Obesity in Childhood and Adolescence: A Decade in Review. *J Res Adolesc*, 21(1):129-152.
- Spyckerelle Y, Gueguen R, Guillemot M, Tosi E, Deschamps JP. 1988. Adiposity indices and clinical opinion. *Ann Hum Biol*. 15(1):45-54.
- Steinmetz M, Nickenig G, Werner N. 2009. Perspectives of regenerative mechanisms in cardiovascular disease spotlighting endothelial progenitor cells. *Med Klin (Munich)*, 104(4):287-95.
- Stroescu R, Micle I, Marginean O, Bizerea T, Marazan M, Puiu M, Sipos C, Doros G. 2013. Is small for gestational age status associated with an increased risk of atherogenesis? *Maedica (Buchar)*, 8(4):315-20.
- Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE. 1990. The body-mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med*, 24;322(21):1483-7.
- Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Wagner M, Isner JM, Asahara T. 1999. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*, 5(4):434-8.
- Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, Levine JP, Gurtner GC. 2002. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*, 106(22):2781-6.

- Thijssen DH, Vos JB, Verseyden C, van Zonneveld AJ, Smits P, Sweep FC, Hopman MT, de Boer HC. 2006. Haematopoietic stem cells and endothelial progenitor cells in healthy men: effect of aging and training. *Aging Cell*, 5(6):495-503.
- Tiedjen U, Petermann F, Sievers K, Stachow R. 2000. Long-term effects of obesity treatment in inpatient rehabilitation of children and adolescents. *Kindheit und Entwicklung*, 9(2):94-101.
- Timmons BW, Naylor PJ, Pfeiffer KA. 2007. Physical activity for preschool children-how much and how? *Can J Public Health*, 98 Suppl 2:S122-34.
- Tirosh A, Shai I, Afek A, Dubnov-Raz G, Ayalon N, Gordon B, Derazne E, Tzur D, Shamis A, Vinker S, Rudich A. 2011. Adolescent BMI trajectory and risk of diabetes versus coronary disease. *N Engl J Med*, 364(14):1315-25.
- Toshner M, Voswinckel R, Southwood M, Al-Lamki R, Howard LS, Marchesan D, Yang J, Suntharalingam J, Soon E, Exley A, Stewart S, Hecker M, Zhu Z, Gehling U, Seeger W, Pepke-Zaba J, Morrell NW. 2009. Evidence of dysfunction of endothelial progenitors in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 180(8):780-7.
- Umemura T, Soga J, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, Jitsuiki D, Nishioka K, Goto C, Teragawa H, Yoshizumi M, Chayama K, Higashi Y. 2008. Aging and hypertension are independent risk factors for reduced number of circulating endothelial progenitor cells. *Am J Hypertens*, 21(11):1203-9.
- Urbich C, Dimmeler S. 2004. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res*, 95(4):343-53.
- Urbina EM, Gidding SS, Bao W, Pickoff AS, Berdusis K, Berenson GS. 1995. Effect of body size, ponderosity, and blood pressure on left ventricular growth in children and young adults in the Bogalusa Heart Study. *Circulation*, 91(9):2400-6.
- Vafa M, Moslehi N, Afshari S, Hossini A, Eshraghian M. 2012. Relationship between breastfeeding and obesity in childhood. *J Health Popul Nutr*, 30(3):303-10.

- Van Name M, Santoro N. 2013. Type 2 diabetes mellitus in pediatrics: a new challenge. *World J Pediatr*, 9(4):293-9.
- Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. 2001a. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*, 103(24):2885-90.
- Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. 2001b. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*, 89(1):E1-7.
- Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. 2002. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*, 106(12):1439-41.
- Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, Szmitko PE, Zucco L, Wang CH, Badiwala MV, Mickle DA, Weisel RD, Fedak PW, Stewart DJ, Kutryk MJ. 2004. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation*, 109(17):2058-67.
- Verwied-Jorky S, Grote V, Ommer-Hohl J, Ellrott T, Koletzko B. 2011. Evaluation of the PowerKids Behavioural Training for Overweight Children with Additional Weekly Group Training Sessions. *Aktuel Ernährungsmed*, 36(3): 161-166.
- Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. 2001. Low-grade systemic inflammation in overweight children. *Pediatrics*, 107(1):E13.
- Völler H, Schmailzl KJG, Bjarnason-Wehrens B. 2004. Obesity and cardiovascular diseases-theoretical background and therapeutic consequences. *Z Kardiol*, 93(7):503-13.
- Wabitsch M. 2000. Overweight and obesity in European children: definition and diagnostic procedures, risk factors and consequences for later health outcome. *Eur J Pediatr*, 159 Suppl 1:S8-13.

Wabitsch M. 2004. Obese children and adolescents in Germany. A call for action. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 47(3):251-5.

Walter U, Kramer S, Röbl M. 2005. Körperliche (In)Aktivität in Kindheit und Jugend. Dtsch Med Wochenschr, 130(50):2876-2878.

Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, Nishimura H, Losordo DW, Asahara T, Isner JM. 2002. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. Circulation, 105(25):3017-24.

Walther C, Adams V, Bothur I, Drechsler K, Fikenzer S, Sonnabend M, Bublitz B, Körner A, Erbs S, Busse M, Schuler G. 2008. Increasing physical education in high school students: effects on concentration of circulating endothelial progenitor cells. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 15(4):416-22.

Walther C, Gaede L, Adams V, Gelbrich G, Leichtle A, Erbs S, Sonnabend M, Fikenzer K, Körner A, Kiess W, Bruegel M, Thiery J, Schuler G. 2009. Effect of increased exercise in school children on physical fitness and endothelial progenitor cells: a prospective randomized trial. Circulation, 120(22):2251-9.

Wärnberg J, Moreno LA, Mesana MI, Marcos A; AVENA group. 2004. Inflammatory mediators in overweight and obese Spanish adolescents. The AVENA Study. Int J Obes Relat Metab Disord, Suppl 3:S59-63.

Waterland RA, Garza C. 1999. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. Am J Clin Nutr, 69(2):179-97.

Watts K, Beye P, Siafarikas A, O'Driscoll G, Jones TW, Davis EA, Green DJ. 2004. Effects of exercise training on vascular function in obese children. J Pediatr, 144(5):620-5.

Watts K, Jones TW, Davis EA, Green D. 2005. Exercise training in obese children and adolescents: current concepts. Sports Med, 35(5):375-92.

- Webber LS, Srinivasan SR, Wattigney WA, Berenson GS. 1991. Tracking of serum lipids and lipoproteins from childhood to adulthood. The Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol*, 133(9):884-99.
- Wee CC, Mukamal KJ, Huang A, Davis RB, McCarthy EP, Mittleman MA. 2008. Obesity and C-reactive protein levels among white, black, and hispanic US adults. *Obesity (Silver Spring)*, 16(4):875-80.
- Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G. 2005. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*, 353(10):999-1007.
- Werner N, Nickenig G. 2004. Vascular progenitor cells and atherogenesis. Regression and regeneration using bone marrow? *Dtsch Med Wochenschr*, 129(22):1269-75.
- Werner N, Priller J, Laufs U, Endres M, Böhm M, Dirnagl U, Nickenig G. 2002. Bone marrow-derived progenitor cells modulate vascular reendothelialization and neointimal formation: effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22(10):1567-72.
- Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. 1997. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med*, 337(13):869-73.
- Woo KS, Chook P, Yu CW, Sung RY, Qiao M, Leung SS, Lam CW, Metreweli C, Celermajer DS. 2004. Effects of diet and exercise on obesity-related vascular dysfunction in children. *Circulation*, 109(16):1981-6.
- World Health Organisation. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 894:i-xii, 1-253.
- World Health Organisation. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. (<http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/en/index.html>).

- World Health Organisation. 2012. Obesity and Overweight. Fact sheet N°311. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>).
- Wong CY, O'Moore-Sullivan T, Leano R, Byrne N, Beller E, Marwick TH. 2004. Alterations of left ventricular myocardial characteristics associated with obesity. *Circulation*, 110(19):3081-7.
- Wu DM, Chu NF, Shen MH, Chang JB. 2003. Plasma C-reactive protein levels and their relationship to anthropometric and lipid characteristics among children. *J Clin Epidemiol*, 56(1):94-100.
- Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, Kawamoto A, Silver M, Murasawa S, Bosch-Marce M, Masuda H, Losordo DW, Isner JM, Asahara T. 2003. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation*, 107(9):1322-8.
- Yanovski JA. 2001. Intensive therapies for pediatric obesity. *Pediatr Clin North Am*, 48(4):1041-53.
- Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, Almeida-Porada G, Ogawa M, Leary AG, Olweus J, Kearney J, Buck DW. 1997. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 90(12):5002-12.
- Yu CC, Li AM, Chan KO, Chook P, Kam JT, Au CT, So RC, Sung RY, McManus AM. 2013. Orlistat improves endothelial function in obese adolescents: a randomised trial. *J Paediatr Child Health*, 49(11):969-75.
- Yu ZB, Han SP, Zhu GZ, Zhu C, Wang XJ, Cao XG, Guo XR. 2011. Birth weight and subsequent risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*, 12(7):525-42.
- Zwiauer KF. 2000. Prevention and treatment of overweight and obesity in children and adolescents. *Eur J Pediatr*, 159 Suppl 1:S56-68.
- Zwiauer KF, Widhalm KM. 1984. The development of obesity in childhood. *Klin Padiatr*, 196(6):327-35.

## 9 Anhang

### 9.1 Fragebogen

#### Probandenfragebogen

Da Sie sich an der Studie zum Thema „Endotheliale Progenitorzellen bei Jugendlichen“ der Friedrich-Schiller-Universität in Jena beteiligen möchten, senden wir Ihnen hiermit vorab einen Fragebogen, den Sie bitte ausfüllen und zum vereinbarten Termin mitbringen!

Vielen Dank. Wir freuen uns über Ihre Teilnahme.

Mit freundlichen Grüßen

M. Schaarschmidt

Name:

---

Vorname:

---

Geburtsdatum:

---

Straße:

---

PLZ/Wohnort:

---

*Telefon:*

---

#### ▪ **Sportgewohnheiten**

Betätigen Sie sich sportlich?                      ☐ ja                      ☐ nein

Wenn ja, welche Sportarten üben Sie aus?

Seit wann üben Sie diesen Sport/diese Sportarten aus?

Wie oft pro Woche üben Sie Sport aus?

Wie lange dauert eine Trainingseinheit/betätigen Sie sich sportlich?

Wie würden Sie Ihre eigene körperliche Fitness auf einer Skala von 1-6 einschätzen, wenn 1 „sehr gut“ bedeutet und 6 „sehr schlecht“? (bitte ankreuzen)

1	2	3	4	5	6
---	---	---	---	---	---

▪ **Ernährung in der Familie und auswärts**

Wie oft nehmen Sie selbst bereitete Brote mit zur Schule/Arbeit?

Wie oft wird bei Ihnen zu Hause warm gegessen?

Isst Ihre Familie gemeinsam oder essen Sie eher allein?

Achten Ihre Eltern auf Ihre Ernährung? ☐ ja ☐ nein

Wie viele Mahlzeiten nehmen Sie pro Tag zu sich?

Wann nehmen Sie Ihre Mahlzeiten zu sich?

Haben Ihre Eltern ähnliche Essgewohnheiten wie Sie?

Wie häufig essen Sie Süßigkeiten?



Wie häufig essen Sie Obst und Gemüse?

Wie oft essen Sie außer Haus?

Wo essen Sie außer Haus? (bitte ankreuzen)

- ☐ Schulkantine
- ☐ Mc Donalds oder ähnliches
- ☐ Bäcker/Kiosk
- ☐ Döner/Pizza
- ☐ Restaurants
- ☐ andere: \_\_\_\_\_

▪ **Familie**

Wie viel wogen Sie zu Ihrer Geburt?

Wie viel wiegen Sie jetzt?

Wie groß sind Sie?

Wie alt ist Ihr Vater?

Wie alt ist Ihre Mutter?

Welchen Beruf hat Ihr Vater gelernt?

In welchem Beruf arbeitet er derzeit?

Welchen Beruf hat Ihre Mutter gelernt?

In welchem Beruf arbeitet sie derzeit?

Gewicht und Größe des Vaters?

Gewicht und Größe der Mutter?

Wie viele Geschwister haben Sie und wie alt sind diese?

Sind Ihre Geschwister übergewichtig?

▪ **Freizeit**

Wie viele Stunden arbeiten/spielen Sie pro Tag am Computer?

Wie viele Stunden sehen Sie pro Tag fern?

Steht ein eigener Computer in Ihrem Zimmer?

Steht ein eigener Fernseher in Ihrem Zimmer?

▪ **Abnehmprogramm**

Wie lange waren Sie damals in stationärer Behandlung?

Wie viele kg haben sie während des Aufenthaltes abgenommen?

Wie hat sich Ihr Leben nach der Entlassung verändert?

Die bewusstere Ernährung wurde fortgeführt? ☐ ja ☐ nein

Wenn ja, für wie lange? \_\_\_\_\_

Die sportliche Betätigung wurde fortgeführt? ☐ ja ☐ nein

Wenn ja, für wie lange? \_\_\_\_\_

Konnte das Gewicht gehalten werden? ☐ ja ☐ nein

Wenn nein: Gewichtszunahme um \_\_\_\_\_ kg

oder weitere Gewichtsreduktion um \_\_\_\_\_ kg

▪ **Schule & Beruf**

Welche Schule besuchen Sie?

Wie sind ungefähr Ihre schulischen Leistungen (Schulnote)?

Mussten Sie einmal eine Klassenstufe wiederholen?

Welchen Beruf/Studium erlernen Sie?

Fordert dieser Beruf/Studium Ihre körperliche Aktivität?      ☐ ja   ☐ nein

Wenn ja, wie viele Stunden pro Tag sind Sie in körperlicher Bewegung?

Inwieweit haben sich durch den Beruf/Studium Ihre Essgewohnheiten verändert?

Haben Sie seit Beginn der Ausbildung/Studium zu - bzw. abgenommen?

Wenn ja, wie viele Kilogramm?

▪ **Familienanamnese**

Leiden Sie an bestimmten Krankheiten? Wenn ja, an welchen?

An welchen Krankheiten leiden Ihre Eltern?

Welche Krankheiten haben Ihre Großeltern?

Leiden Ihre Geschwister an bestimmten Krankheiten? Wenn ja, an welchen?

Haben Ihre Eltern, Großeltern, Geschwister eine bekannte Herzerkrankung, wie z. B. Koronare Herzkrankheit, Herzinfarkt, angeborene/erworbene

Herzfehler, eingesetzte Herzklappen oder andere chronische Herzleiden?  
Wenn ja, welche?

Gab es in Ihrer Familie jemanden, der an einer Herzkrankheit verstorben ist?

▪ **Medikamente**

Nehmen Sie regelmäßig Medikamente?    ☐ ja            ☐ nein

Wenn ja, welche?

▪ **Nikotin**

Rauchen Sie?            ☐ ja            ☐ nein

Was Rauchen Sie?

Wenn ja, seit wann und wie viel pro Tag?

Raucht Ihr Vater?

Raucht Ihre Mutter?

▪ **Ärztliche Ergänzungen**

---

---

Ort, Datum

Unterschrift des Arztes

## **9.2 Vorabveröffentlichung**

Rohm I, Schaarschmidt M, Figulla HR, Lichtenauer M, Goebel B, Franz M, Jung C. 2014. Effect of a weight loss program in obese adolescents; a long-term follow-up. Nutr Hosp, 30(n02):267-274.

### **9.3 Danksagung**

Danken möchte ich in erster Linie Herrn PD Dr. Christian Jung für die Überlassung dieses interessanten Themas und für die Möglichkeit, an der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Jena zu promovieren. Zudem bedanke ich mich bei ihm für seine umfassende, stets freundliche und unkomplizierte Unterstützung sowie für die Zeit und Mühe, die er in meine Arbeit investiert hat.

Daneben möchte ich mich bei Annett Schmidt für die nette Hilfe und Einarbeitung in die angewandte Methodik der Bestimmung endothelialer Progenitorzellen bedanken.

Ein herzlicher Dank gilt meinen lieben Eltern, die mir mein Medizinstudium ermöglichten und mich während dieser Zeit stets unterstützten. Vielen Dank für eure Zuversicht und Motivation, auch hinsichtlich der Fertigstellung dieser Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinem Ehemann Daniel für seine Liebe und Kraft, die er mir täglich schenkt, bedanken. Danke für dein offenes Ohr, deine Ruhe, Ausdauer und Motivation.

Mein herzlicher Dank gilt außerdem meiner Schwiegermutter Uschi Schramm sowie meiner Freundin Claudia Pohlers für ihre Unterstützung beim Korrekturlesen der Arbeit.

Abschließend danke ich meinen Eltern, Geschwistern, Verwandten und Freunden, die mich auf meinem Weg bis hierher begleitet haben, mich tatkräftig unterstützt und wenn nötig aufgebaut sowie für die erforderliche Abwechslung gesorgt haben.

## **9.4 Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: PD Dr. Christian Jung,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Callenberg, 20.05.2015